

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

UNIDAD DE POSGRADO

**Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de
Plantago lanceolata (llantén menor) sobre la úlcera
gástrica inducida en ratas**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Farmacología

AUTOR

Marcos León Vásquez

Lima – Perú

2016

DEDICATORIA

*A MI MADRE MATILDE RICARDINA,
por su inconmensurable amor de madre,
y haberme apoyado en todo momento,
por sus consejos, valores y motivación
constante*

*A mi esposa KARIN y mis hijos GIAN
FRANCO Y MARCOS THIAGO: mi
amor mi alegría, por acompañarme
siempre.*

AGRADECIMIENTO

*A **DIOS**, por haberme dado salud y lo necesario para seguir adelante día a día para lograr mis objetivos*

*Mi agradecimiento a mi asesor Dr. **JORGE ARROYO**, por sus valiosos conocimientos y apoyo incondicional.*

ÍNDICE

RESUMEN SUMMARY

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

1.1	Situación problemática	1
1.2	Formulación del problema	2
1.3	Justificación de la investigación	3
1.3.1	Justificación teórica	3
1.3.2	Justificación práctica	4
1.4	Objetivos de la investigación	4
1.4.1	Objetivo general	4
1.4.2	Objetivos específicos	4

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1.	Antecedentes del problema	5
2.2.	Bases teóricas	7
2.2.1.	<i>Plantago lanceolata</i> L. (llantén menor)	7
2.2.2.	Úlcera gástrica	9

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1.	Tipo y Diseño de Investigación	14
3.2.	Unidad de Análisis	14
3.3.	Población de Estudio	14
3.4.	Tamaño de Muestra	14
3.5.	Selección de Muestra	14
3.6.	Hipótesis y Variables	15
3.6.1.	Hipótesis General	15
3.7.	Identificación de Variables	15
3.7.1.	Variable dependiente	15
3.7.1.1.	Úlcera gástrica	15
3.7.1.2.	Toxicidad aguda	15

3.7.2. Variable independiente	15
3.7.2.1. Extracto hidroalcohólico de <i>Plantago lanceolata</i> L.	15
3.7.3. Variables intervinientes	15
3.7.3.1. Época de recolección de la planta	15
3.7.3.2. Aspectos geográficos de la planta	15
3.8. Materiales	15
3.8.1. Material biológico	15
3.8.2. Material farmacológico	15
3.8.3. Material de laboratorio	16
3.9. Métodos	16
3.9.1. Diseño experimental	17
3.9.1.1. Identificación taxonómica de la planta	17
3.9.1.2. Preparación de la muestra	17
3.9.1.3. Estudio fitoquímico preliminar	17
3.9.1.4. Inducción de úlcera gástrica con una dosis única De indometacina	18
3.9.1.5. Determinación de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de <i>Plantago lanceolata</i> L.	19
3.10. Análisis e Interpretación de la Información	20
3.11. Consideraciones Éticas	20

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1. Del análisis fitoquímico cualitativo del extracto hidroalcohólico de <i>Plantago lanceolata</i> L.	21
4.2. Del efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de <i>Plantago lanceolata</i> L.	22
4.3. De la determinación de la toxicidad aguda del extracto Hidroalcohólico	32
DISCUSIÓN	33
CONCLUSIONES	37
RECOMENDACIONES	38
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
ANEXO 1	45
ANEXO 2	47

LISTA DE TABLAS

TABLA N°		Pág.
1	Pruebas para la determinación del análisis fitoquímico cualitativo de las hojas de <i>Plantago lanceolata</i> L. (Llantén menor).	18
2	Compuestos presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Plantago lanceolata</i> L. (Llantén menor)	21
3	Evaluación de hiperemia en la mucosa gástrica en un modelo experimental de úlcera gástrica inducida por Indometacina.	22
4	Edema en la mucosa gástrica de los animales de experimentación.	22
5	Hemorragia puntiforme en la mucosa gástrica de los animales de experimentación.	23
6	Evaluación de úlcera en la mucosa gástrica en un modelo experimental de úlcera gástrica inducida por indometacina.	23
7	Hemorragia lineal en la mucosa gástrica.	24
8	Porcentaje de inhibición del índice de ulceración de la mucosa gástrica en un modelo experimental de úlcera gástrica inducida por indometacina.	24
9	Test de Chi cuadrada del indicador de hiperemia.	45
10	Test de Chi cuadrada del indicador de edema.	45
11	Test de Chi cuadrada del indicador de hemorragia puntiforme.	45
12	Test de Chi cuadrada del indicador de úlcera.	46
13	Test de Chi cuadrada del indicador de hemorragia lineal.	46

LISTA DE FIGURAS

Figura N°		Pág.
1	Plantago lanceolata L. obtenida de la jurisdicción de Catán, distrito de Jesús, provincia y región de Cajamarca.	8
2	Porcentaje de inhibición del índice de ulceración con examen macroscópico.	25
3	Mucosa gástrica de Rattus Norvegicus del grupo control negativo, tratado con SSF 4 ml/kg (VO), no presenta lesiones	25
4	Mucosa gástrica de rattus norvegicus del grupo 2 tratados con indometacina 80 mg/kg (VSC); presenta lesiones	26
5	Mucosa gástrica grupo 3 tratado con extracto hidroalcohólico de Plantago lanceolata L. de 200 mg/kg (VO)	26
6	Mucosa gástrica grupo 4 tratado con extracto de hidroalcohólico de Plantago lanceolata L. 400 mg/kg.	27
7	Mucosa gástrica grupo 5 tratado con omeprazol 20 mg/kg (VO)	27
8	Mucosa gástrica grupo 6 tratado con ranitidina 100 mg/kg (VO)	28
9	Corte histológico de mucosa gástrica de Rattus Norvegicus grupo 1 control. Sin alteraciones histológicas significativas 100X.	28
10	Corte histológico de mucosa gástrica de grupo 2 tratado con indometacina 80mg/kg (VSC), se observa gastritis erosiva 100X.	29
11	Corte histológico de mucosa gástrica de grupo 2 tratado con indometacina 80 mg/k (VO) Obsérvese la congestión de vasos sanguíneos (flechas) 100X.	29

12	Corte histológico de mucosa gástrica de grupo extracto hidroalcohólico de <i>Plantago lanceolata</i> L. 200 mg/kg. Sin alteraciones histológicas significativas 100X.	30
13	Corte histológico de mucosa gástrica de grupo 4 tratado con extracto hidroalcohólico de <i>Plantago lanceolata</i> L. 400 mg/kg. Sin alteraciones histológicas significativas. 100X.	30
14	Corte histológico de mucosa gástrica de grupo 5 tratado con omeprazol 20 mg/kg (VO) Sin alteraciones histológicas significativas. 100X.	31
15	Corte histológico de mucosa gástrica de grupo 6 tratado con ranitidina 80 mg/kg (VO), Sin alteraciones histológicas significativas 100X.	31

RESUMEN

Objetivo: Determinar el efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L. (llantén menor) en animales de experimentación. **Metodología:** Es un estudio de tipo experimental, en donde se indujo las úlceras gástricas con indometacina a dosis única de 80 mg/kg vía subcutánea. Se realizó el análisis fitoquímico cualitativo para la determinación de metabolitos secundarios. Para la determinación del efecto antiulceroso se formaron 06 grupos: grupo control solución salina fisiológica a 4 mL/kg, grupo indometacina (I), y cuatro grupos experimentales indometacina más extracto a 200 y 400 mg/kg, omeprazol a 20 mg/kg y ranitidina a 100 mg/kg respectivamente. Se administraron los extractos y medicamentos estándar a las 24, 12 y una hora antes de la inducción de la úlcera gástrica. Se realizó el examen macroscópico y microscópico de las mucosas gástricas de todas las ratas determinándose el porcentaje de inhibición antiulceroso. **Resultados:** El extracto hidroalcohólico a la dosis de 200 y 400 mg/kg presentó efecto antiulceroso en los indicadores evaluados de hiperemia, edema, úlcera y hemorragias siendo estadísticamente significativos y un porcentaje de inhibición de 83,1 % y 98,9 % respectivamente en comparación al omeprazol (67,4 %) y Ranitidina (44,9 %). A nivel microscópico no se evidenciaron alteraciones histológicas significativas. **Conclusiones:** El extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L. (llantén menor) presenta flavonoides, compuestos fenólicos, alcaloides, triterpenos y/o esteroides y presentó efecto antiulceroso a las dosis evaluadas en el modelo empleado sin signos de toxicidad aguda.

Palabras clave: *Plantago lanceolata* L., llantén menor, indometacina, extracto hidroalcohólico, toxicidad aguda.

SUMMARY

Objective: To determine the antiulcer effect of hydroalcoholic extract of *Plantago lanceolata* L. (llantén minor) in experimental animals.

Methodology: It is an experimental study in which gastric ulcers was induced indomethacin with single dose 80 mg/kg via subcutaneous. Phytochemical qualitative was conducted analysis for the determination of secondary metabolites. To determine the effect antiulcer were formed 06 groups: group control physiological saline at 4 mL/kg, group Indomethacin (I), and four experimental groups over indomethacin most extract 200 and 400 mg/kg, omeprazole 20 mg/kg and ranitidine 100 mg/kg respectively. Was administered the extracts and standard drug at 24, 12 and one hour before the induction of gastric ulcer. Macroscopic and microscopic examination of the gastric mucosa of all rats antiulcer determining the percentage of inhibition was done. **Results:** The dose hydroalcoholic extract 200 and 400 mg/kg present antiulcer effect on the indicators evaluated hyperemia, edema, ulceration and hemorrhage were statistically significant and percent inhibition of 83,1 % and 98,9 % respectively compared to omeprazole (67,4%) and ranitidine (44,9%). Microscopically no were evident significant histological changes. **Conclusions:** The hydroalcoholic extract of *Plantago lanceolata* L. (plantain low) presents flavonoids, phenolics, alkaloids, triterpenes and/or steroids and presented antiulcer effect at the doses evaluated in the model used without signs of acute toxicity.

Keywords: *Plantago lanceolata* L., llantén minor, indomethacin, hydroalcoholic extract, acute toxicity.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. Situación problemática

La úlcera péptica (UP) es el resultado de un desequilibrio entre los factores agresivos y defensivos de la mucosa gastroduodenal. A principios del siglo XX, el estrés, tabaquismo, alcohol y la dieta fueron considerados los principales factores patógenos. En la década de los 50, cuando investigadores y clínicos centraron su atención en el papel patogénico del ácido, la terapia antiácida se convirtió en el tratamiento de elección (Hernández *et al.*, 2013).

El término de úlcera se refiere a la pérdida de sustancia de cualquier parte de la superficie del cuerpo humano. Así la úlcera péptica sería aquella pérdida de sustancia que ocurre en las zonas del aparato digestivo que están expuestas al ácido y pepsina que se secreta en el estómago. La úlcera péptica es definida histológicamente como un defecto de la mucosa que se extiende más allá de la *muscularis mucosae*. La mayoría de las úlceras existen en el estómago y el duodeno proximal (úlcera duodenal), mientras que menos comúnmente en el esófago inferior, el duodeno distal o el yeyuno (Regalado & Sánchez, 2012).

La úlcera gastroduodenal es una de las patologías vistas comúnmente en la práctica clínica diaria, habiéndose descrito que el porcentaje de la población general que presentara alguna manifestación de enfermedad ulcerosa péptica a lo largo de su vida es de 5 – 10 %. Sin embargo algunos estudios endoscópicos prospectivos muestran que cerca de la mitad de los pacientes son asintomáticos, por lo que podría esperarse que la verdadera prevalencia sea el doble de la anteriormente señalada, esta

prevalencia es aún mayor en ciertas poblaciones de pacientes como son los usuarios de AINEs u hospitalizados (Montes, P., et al., 2007).

El porcentaje de la prevalencia del *Helicobacter pylori* hallado en pacientes peruanos con gastritis crónica activa, úlcera gástrica y úlcera duodenal, fue similar a los reportados en el resto del mundo. (Ramírez, A., 2003).

Las civilizaciones a través de las generaciones, han empleado una gran variedad de plantas en forma empírica, para combatir sus problemas de salud. Para que una planta sea considerada como medicinal, es necesario que por lo menos una de sus partes presente un efecto terapéutico. Al *Plantago lanceolata* L. se le han atribuido propiedades astringentes, analgésicas, antiinflamatorias, antiulcerantes, antihistamínicas, antiparasitarias, antivirales, antibacterianas, expectorantes y antitumorales (Tamez *et al.*, 2001). *Plantago lanceolata* L. es una planta perenne, con crecimiento invernal, de hojas anchas acanaladas dispuestas en roseta (Siervers & Nannig, 2006).

La presente investigación tiene como objetivo determinar a través de una metodología farmacológica descrita en los antecedentes bibliográficos el efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L. (*llantén menor*) en ratas (*Rattus norvegicus*), inducidos experimental.

1.2. Formulación del problema

¿El extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L. (*llantén menor*) presentará efecto antiulceroso sobre la úlcera gástrica inducida en ratas (*Rattus norvegicus*)?

1.3. Justificación de la investigación

1.3.1 Justificación teórica

Plantago Lanceolata L. es una planta perenne de la familia Plantaginaceae, se ha utilizado en la medicina tradicional como antiinflamatorio, astringente, antihistamínicos, anti-reumática, antitumoral, antiúlcero, diurético, expectorante e hipotensor (Al-jumaly, E., *et al*, 2012).

Las hojas de *Plantago major* L. otra especie del genero estudiado, se ha utilizado como un remedio para la cicatrización de heridas en casi todas las partes del mundo y en el tratamiento de enfermedades relacionadas con la piel, órganos respiratorios, órganos digestivos, de la reproducción, de la circulación, contra el cáncer, para el alivio del dolor y contra las infecciones. Contiene compuestos biológicamente activos tales como polisacáridos, lípidos, derivados del ácido cafeico, flavonoides, glucósidos, iridoides, terpenoides y alcaloides (Samuelsen, A., 2000).

Melese *et al.* (2011) evaluaron el efecto del extracto acuoso de la hoja de *Plantago lanceolata* L. sobre la secreción gástrica y la citoprotección en donde se administraron dosis de 140 mg/kg y 280 mg/kg a ratas inducidas experimentalmente, concluyéndose que a dosis mayores presentó mejor efecto farmacológico en todos los modelos experimentales utilizados.

Kobeasy *et al.*(2013), evaluaron los extractos acuoso y etanólico de *Plantago major* L. a una dosis de 1000 mg/kg (especie del género Plantago), usando el ácido acetil salicílico (aspirina) como inductor de úlcera gástrica, concluyendo un efecto gastroprotector de los extractos en la metodología evaluada.

1.3.2 Justificación práctica

La justificación práctica es buscar nuevas terapias alternativas en el tratamiento de la úlcera gástrica que sean menos tóxicas y/o con menos efectos adversos, que los medicamentos usados en el tratamiento de la úlcera gástrica y al no haberse encontrado investigaciones en nuestro medio referente a la especie vegetal *Plantago lanceolata* L. (llantén menor); se sustenta este estudio como una alternativa coadyuvante en el tratamiento de la úlcera gástrica. El estudio tiene como objetivo validar el efecto antiulceroso atribuido por la medicina tradicional y asimismo de ampliar conocimientos teóricos de tipo farmacológico y tóxico de acuerdo a los objetivos planteados de la presente especie vegetal y que sirva como antecedente para otros estudios farmacológicos.

1.4. Objetivos de la investigación

1.4.1 Objetivo general

Determinar el efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L. (llantén menor) en ratas.

1.4.2 Objetivos específicos

1. Identificar los metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de *Plantago Lanceolata* L.; mediante análisis fitoquímico.
2. Evaluar el efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L. en ratas.
3. Evaluar la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L. administrado en dosis única por vía oral y con observación durante 14 días en ratones.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del Problema

En un ensayo clínico a doble ciego controlado paralelo con una muestra de 20 pacientes voluntarios, demostraron que el grupo tratado con principios activos de las especies vegetales de *Melissa officinalis* L. y *Plantago lanceolata* L. tuvieron una remisión de las lesiones del acné de 5 a 8 días más breve en comparación del grupo control, por lo que el uso de los principios activos de plantas naturales para tratar el acné vulgar presenta diferentes grados de eficacia, siendo relevante el tiempo y las concentraciones de los principios activos. Asimismo se señala que *Plantago lanceolata* L. posee un glucósido, que se trata de un iridoide llamado aucubosido que por hidrólisis produce un dialdehído que actúa sobre las proteínas de los microorganismos, teniendo por tanto propiedades antibacterianas; además en su composición se encuentran ácidos-fenoles (ferulico, p-coumarino) (Carvajal *et al.*, 2011).

En Iraq se realizó un estudio con los taninos purificados del extracto etanólico de las hojas de *Plantago lanceolata* L. (recogidas en el mismo país) para determinar la actividad antibacteriana que fueron investigados por difusión en agar y método de microdilución utilizando *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Candida albicans*, *Candida kruzei* y *Candida parapsilosis* y cuyo resultado mostró efecto antibacteriano *in vitro* e *in vivo* (Al-jumaly, E., *et al*, 2012).

Se realizó una investigación descriptiva de corte transversal, cuya muestra estuvo constituida por 60 odontólogos seleccionados al azar que

ejercen en las clínicas privadas del Municipio Libertador del Estado Mérida, a quienes se les aplicó una encuesta estructurada de 12 preguntas, fundamentadas en el conocimiento, uso y frecuencia con la que el odontólogo recomienda el uso de *Plantago major* L. sobre lesiones inflamatorias de la cavidad bucal, en donde se se encontró que 58,3 % de los Odontólogos utilizan la planta en inflamaciones orales, como gingivitis (48,3 %), aftas (16,7 %) y periodontitis (15 %) (Rodríguez, Y, *et al*, 2014).

Dávalos y Bustamante (2008), reportaron que los extractos etanólico y acuoso de *Plantago major* presentó una actividad gastroprotectora similar al omeprazol.

Velasco, R., (2006), realizó un estudio en medula ósea y bazo de ratones, así como en cultivos de *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* y *Candida albicans*, en donde los resultados reportados fueron que el extracto metanólico de *Plantago major* presentó experimentalmente actividad hematopoyética y los extractos acuoso, metanólico y clorofórmico presentaron actividad antibacteriana, por lo que apoya el uso popular contra la anemia y las infecciones bacterianas.

En un estudio realizado con los extractos hidroalcohólicos de hojas, raíces y frutos de *Plantago australis* Lam. se determinó sus posibles propiedades antiinflamatorias y analgésicas con la inducción del edema de pata por carragenina, cuyo resultado fue significativamente inhibida ($P < 0,05$) por la administración oral de estos extractos, asimismo hubo una reducción en el número total de contorsiones inducidas por el ácido acético con todas las partes de la planta estudiadas, por lo que se concluye que los extractos hidroalcohólicos de hojas, raíces y frutos de *P. australis* estarían dotadas de actividad antiinflamatoria y analgésica (Palmeiro et al., 2002).

El género *Plantago* es una planta medicinal importante que tiene diferentes compuestos, tales como compuestos fenólicos (derivados del ácido cafeico), flavonoides, alcaloides, terpenoides, y vitamina C, altos

niveles derivados de grupos fenólicos y poderosas sustancias con capacidad antioxidante (Haddadian, *et al.*, 2014).

El *Plantago major* (semillas y hojas) presenta un alto porcentaje de ácido linolénico (56,19%) y ácido linoleico (25,41%). Las hojas de esta especie vegetal contienen compuestos fenólicos, flavonoides y taninos, así como presenta actividad antioxidante y presentaron un efecto sobre el crecimiento de células tumorales causando la muerte de estas en un 74% (Kobeasy *et al.*, 2011).

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. *Plantago lanceolata* L. (llantén menor)

Es una hierba perenne acaule, con raíces de hasta 0,75 mm de grosor. Son características las hojas que forman una o varias rosetas basales; miden 2 – 30 × 0,5 – 3,5 cm (más de cinco veces más largas que anchas), son linear – lanceoladas a lanceoladas, enteras o escasamente dentadas, con 3 – 5 venas, pubescentes o seríceo - lanosas, sésiles o con un peciolo tan largo como la lámina. Las flores se disponen en espigas en el extremo de un escapo que mide de largo aproximadamente el doble de las hojas y que tiene 5 surcos longitudinales y una pubescencia más o menos adpresa. Las espigas son muy densas y miden entre 0,5 y 5(8) cm; las flores son tetrámeras, actinomorfas, hermafroditas y bracteadas. Las brácteas, de 2,5 – 3,5 mm, son ovadas y glabras o poco pelosas; los sépalos, de 2,5 – 3 mm, son también poco pelosos, por lo que la espiga no tiene un aspecto lanoso; son persistentes, y el anterior es connado en la mayor parte de su longitud pero tiene sus venas separadas. La corola es gamopétala y escariosa; forma un tubo de 2 – 3 mm glabro, con lóbulos de 1,5 – 2,5 mm, lanceolados a ovados y glabros, patentes o reflejos. El ovario es súpero, con 2 – 4 lóculos y los estambres se insetan en el tubo de la corola; éstos son largos, exertos y en su extremo están las anteras blancas o amarillentas, bien visibles al madurar la flor. El fruto

es una cápsula de 3 o 4 mm dehiscente. Florece de marzo a noviembre (Pedrol, J., 1980).

Pertenece a la familia Plantaginaceae, este género comprende unas 200 especies, extendidas en todas las regiones templadas y frías del mundo. El llantén menor es una planta medicinal y a partir de sus hojas se preparan infusiones y extractos fluidos con propiedades farmacológicas reconocidas, tales como antiinflamatoria, anticatarral, diurética, litiásica urinaria. También se le atribuyen propiedades como marcador biológico en la contaminación ambiental (Vizoso, A., 2000).

Plantago lanceolata L. es una planta perenne de la familia Plantaginaceae, *P. lanceolata* también se ha utilizado como un anestésico, antiviral, antiinflamatorio, astringente, anti helmintos, analgésicos, analépticos, antihistamínicos, anti reumática, antitumoral, anti úlcera, diurético, expectorante y hipotensor en la medicina tradicional (Al-jumaly, E., *et al*, (2012).



Figura 1. *Plantago lanceolata* L. obtenida de la jurisdicción de Catán, distrito de Jesús, provincia y región de Cajamarca.

2.2.2. Úlcera gástrica

La úlcera péptica es una enfermedad crónica recurrente, en la cual por acción del ácido y la pepsina, además de factores predisponentes, se produce lesión ulcerosa de la mucosa digestiva, es decir una solución de continuidad que atraviesa la capa muscular de la mucosa en cualquiera de los segmentos superiores del tubo digestivo (Hoogerwerf W., 2001).

La fisiología gástrica consiste en la secreción ácida en forma de ácido clorhídrico; éste se forma cuando la bomba ATPasa $\text{-H}^+/\text{K}^+$ (localizada en las membranas de las células parietales) expulsa hidrógeno a cambio de iones potasio, y se conjuga con la secreción de cloruro. El estímulo de las células parietales puede producirse a través de varios mecanismos: estimulación nerviosa (vagal), endocrina (principalmente gastrina) y local (histamina liberada por los mastocitos). La estimulación vagal y de gastrina actúan incrementando el calcio intracelular, mientras que la estimulación de histamina activa la formación de adenosin monofosfato cíclico (AMPc) (Cotran S, Robbins K., 2002).

La aparición de las lesiones ulcerosas en las mucosas proviene del desequilibrio entre los agentes irritativos locales y los mecanismos protectores. Entre los primeros destaca la propia secreción ácida gástrica, ácidos biliares, *Helicobacter pylori* y enzimas proteolíticas como la pepsina; entre los mecanismos protectores destaca la secreción de moco, de carácter glucoproteico, ión bicarbonato (segregado por células mucosas del antro y del duodeno), barrera epitelial y prostaglandina E de la mucosa gastroduodenal. Las concentraciones elevadas de ácido pueden producir por sí mismas, una lesión aguda en la mucosa del tubo digestivo alto. Niveles de ácido más fisiológicos no causan lesión directa, pero tienen un papel permisivo en el desarrollo de las erosiones (ulceraciones) provocadas por otras causas (Hoogerwerf W., 2001).

2.2.2.1. Tipos de úlcera (Valdés et al., 2003)

Tipo I: Se caracterizan por estar localizadas en la curvatura menor. Puede deberse al tipo de circulación de la curvatura menor (más fácilmente

expuesto a alteraciones) y a la gran tensión cinética ejercida por las contracciones peristálticas. Se caracterizan por: hiposecreción, hipoacidez; algunos investigadores consideran que el encontrar un pH alto no significa siempre que la cantidad de ácido es producido en poca cantidad, y más bien es por alteraciones de la mucosa se produce retrodifusión del ión hidrógeno con aumento del pH.

Tipo II: asociadas con úlceras duodenales. Se caracterizan por tener pH bajo, por la hipersecreción de ácido. El factor irritativo es claro, que aprovecha cuando hay disminución de los factores defensivos. En estudios de vaciamiento gástrico se observó que era el único tipo que presentaba retraso en el vaciamiento gástrico, cosa que no ocurría en las de tipo I y III.

Tipo III: asociadas con úlceras prepilóricas. Se caracterizan por que hay pérdida de mecanismos defensivos (alteración de la barrera mucosa). Existe un reflujo de bilis al estómago (se comprueba por endoscopia), que tiene un gran poder detergente y que desintegra la barrera mucosa.

Las manifestaciones clínicas de la enfermedad son: epigastralgia (dolor tipo ardor quemante en epigastrio); en úlcera gástrica, el dolor aumenta con la comida, se acompaña de náusea y se proyecta hacia el dorso; en contraste a la úlcera duodenal que suele ser nocturno, se alivia con la comida y antiácidos, el dolor es intermitente y su presencia y severidad no guarda relación con la actividad de la úlcera, ya que hay muchos casos asintomáticos (Cotran & Robbins, 2002).

2.2.2.2. Tratamiento farmacológico

El tratamiento farmacológico de la úlcera gástrica se clasifica de acuerdo a su mecanismo de acción: Inhibidores de la secreción ácida, dentro de ellos se encuentran, antihistamínicos H_2 , inhibidores de la bomba $ATPasa-H^+/K^+$, anticolinérgicos y antagonistas de la gastrina. Otros tratamientos, lo constituyen los neutralizantes de la secreción ácida, antiácidos; protectores de la mucosa como son sales de bismuto coloidal,

sucralfato y análogos de la prostaglandinas y finalmente los erradicadores de *H. pylori* (Esplugues, J., 1990; Brunton. L., 2006).

Los inhibidores de la ATPasa $-H^+/K^+$ actúan selectivamente sobre el eslabón final del proceso de secreción ácida gástrica, la ATPasa- H^+/K^+ o bomba de protones. Esta enzima representa un paso obligatorio en el proceso de secreción de H^+ , y en contraste con los antagonistas H_2 , la capacidad inhibitoria de estos fármacos es independiente del estímulo desencadenante de la producción ácida. Todos ellos tienen propiedades farmacodinámicas y farmacocinéticas muy similares, siendo el omeprazol el compuesto principal de esta familia (Esplugues, J., 1990).

Más del 90 % de pacientes con úlcera duodenal y el 80 – 90 % de pacientes con úlcera gástrica tienen infección con *H. pylori* en antro pilórico, siendo el más utilizado el esquema de erradicación triple: omeprazol, amoxicilina y claritromicina (Cotran S, Robbins K., 2002).

El omeprazol forma parte del grupo de los inhibidores de la bomba de protones, inhibe la secreción ácida por interactuar en forma irreversible con la bomba de $-H^+/K^+$ ATP asa de la célula parietal (Sachs G et al; 1995; Fellemsius I et al; 1981).

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. El omeprazol es convertido a ácido sulfénico, el cual reacciona con los residuos de Cys-813 de la subunidad α catalítica de la bomba y origina el denominado complejo inhibitorio (Wolfe, et al; 2000; Aldestein G, et al; 1988; Mardh S, et al; 1988; Schubert M; 1990). 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 (Gómez et al, 1997; Romero J, 2002).

La bomba de protones es una enzima que utiliza la energía liberada por el metabolismo del ATP para extraer protones (en este caso iones hidrógeno) a través de la membrana, intercambiándolos por iones potasio. Está constituida por dos subunidades: la alfa, de 111 000 dalton que cataliza la hidrólisis de ATP y transporta los iones, y la beta, más pequeña y con función desconocida hasta ahora. (Gómez M, et al, 1997; Romero J, 2002). En un medio ácido, como el existente en el canalículo secretor de la célula parietal, su estructura molecular se protoniza, pierde la capacidad lipófila y no puede retornar al interior de la célula parietal (Esplugues J, 1990).

La ranitidina es un antagonista de receptores de histamina, del subtipo H₂, mediante este mecanismo de acción se produce una disminución de la secreción gástrica de ácido clorhídrico. Asimismo inhiben la secreción gástrica de ácido, en condiciones basales, en respuesta a estímulos: (físicos y químicos); disminuyen la actividad de pepsina (disminuye la secreción de pepsinógeno) y disminuye la secreción del factor intrínseco, pero no afecta absorción de vitamina B₁₂.

La utilización de inhibidores de la secreción ácida, incluidos los antagonistas H₂, se ha asociado al incremento del riesgo de desarrollar gastroenteritis aguda y neumonía adquirida en la comunidad. En un estudio epidemiológico amplio se ha demostrado un aumento del riesgo de desarrollar neumonía adquirida en la comunidad en los pacientes que toman antagonistas de los receptores H₂, sin embargo, no se ha demostrado una asociación causal con ranitidina (Gómez M, et al, 1997).

Los agentes anticolinérgicos, como la atropina, fueron usados en el pasado para bloquear el efecto directo de la acetilcolina sobre los receptores muscarínicos de la célula parietal, reduciendo, aproximadamente, el 30 % de la secreción ácida provocada por los alimentos. Sin embargo, no fueron tan efectivos como los anti-H₂ y presentaban un elevado índice de efectos secundarios, como sequedad bucal y lacrimal, visión borrosa, arritmias cardíacas y retención urinaria (Vecina T, 2002).

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

- 3.1. Tipo y diseño de investigación:** Es un estudio de tipo experimental, con un diseño observacional de tipo descriptivo, analítico, prospectivo y transversal.
- 3.2. Unidad de análisis:** Ratas machos (*Rattus norvegicus*) de 12 semanas de edad, con un peso entre 200 ± 10 g y ratones albinos machos de 02 meses de edad, con pesos entre 22 ± 5 g obtenidos del Instituto Nacional de Salud del Ministerio de Salud; Lima, Perú.
- 3.3. Población de estudio:** Ratas machos (*Rattus norvegicus*) y ratones albinos machos obtenidos del bioterio del Instituto Nacional de Salud, ubicado en el distrito de Chorrillos, provincia y región de Lima.
- 3.4. Tamaño de muestra:** 36 ratas machos (*Rattus norvegicus*) y 20 ratones albinos machos, para los ensayos de la determinación del efecto antiulceroso y de la toxicidad aguda respectivamente.
- 3.5. Selección de muestra:** La selección de los grupos fue constituido por la población total del número de animales, ratas machos de 12 semanas de edad, con un peso entre 200 ± 10 g, divididos en seis grupos (cada grupo constituido por 6 animales) y ratones albinos de 25 ± 5 g, divididos en 05 grupos de 04 animales, que fueron distribuido en forma aleatoria.

3.6. HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.6.1. Hipótesis general:

El extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L. (llantén menor) es antiulceroso sobre la úlcera gástrica inducida en ratas (*Rattus norvegicus*).

3.7. Identificación de variables

3.7.1. Variable dependiente

3.7.1.1. Úlcera gástrica

3.7.1.2. Toxicidad aguda

3.7.2. Variable independiente

3.7.2.1. Extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L.

3.7.3. Variables intervinientes

3.7.3.1. Época de recolección de la planta

3.7.3.2. Aspectos geográficos de la planta

3.8. MATERIALES

3.8.1. Material biológico

- Ratas albinas (*Rattus norvegicus*), raza Holtzman.
- Ratones albinos
- Hojas de *Plantago lanceolata* L. (llantén menor)

3.8.2. Material farmacológico

- Indometacina (Laboratorios Merck Sharp & Dohme Perú S.R.L.)
- Ranitidina 300 mg (Laboratorios Corporación Infarmasa S.A.)
- Omeprazol 20 mg (Laboratorios Corporación Infarmasa S.A.)
- Pentobarbital 6,5 % (Laboratorios Abbott)

3.8.3. Material de laboratorio

Equipos:

- Estufa, Marca MEMMERT, modelo TV 305.
- Centrífuga, Marca TERMO TEC, modelo central CL-2.
- Microscopio electrónico, marca OLYMPUS
- Balanza Analítica, marca OHAUS, modelo AS200.
- Potenciómetro, marca CIMATEC S.A.C.

Instrumental de laboratorio de vidrio y otros

- Equipo de disección
- Suturas seda negra trenzada 5/0 TC 15 y Catgut crómico 2/0 CR40 x 100 cm. (Cirugía S.A.)
- Jaulas anticoprofágicas.
- Bebederos de agua
- Comida para ratas procedente del Instituto Nacional de Salud.
- Viruta estéril
- Vaso de precipitado
- Tubo de ensayo, gradilla, gotero
- Matraz aforado
- Bagueta, pipeta Pasteur, embudo de vidrio
- Frasco de color ámbar
- Placas petri
- Sonda orogástrica

3.9. MÉTODOS:

- Estudio fitoquímico preliminar (Lock De Ugaz O; 1988).
- Inducción de úlcera gástrica con una dosis única de indometacina (Arroyo *et al*, 2012).
- Toxicidad aguda a dosis única (Arencibia *et al*, 2003).

3.9.1. Diseño Experimental

3.9.1.1. Identificación taxonómica de la planta

Las hojas de *Plantago lanceolata* L. se colectaron en la jurisdicción de Catán (2500 m de altitud), distrito de Jesús, provincia de Cajamarca, región Cajamarca. Se realizó la identificación taxonómica de la planta en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (ver Anexo 2).

3.9.1.2. Preparación de la muestra

El extracto hidroalcohólico se obtuvo en una proporción del 20 % (P/V) para lo cual se procedió a la maceración de la muestra seca pulverizada por un periodo de 15 días y luego hasta agotamiento de extracción, luego se realizó el proceso de secado hasta obtener un extracto seco que fue la que se ensayó en la investigación (Sharapin, 2000). El extracto hidroalcohólico fue conservado a una temperatura de 4 a 8 °C.

3.9.1.3. Estudio fitoquímico preliminar (Lock De Ugaz O; 1988)

Se realizó mediante pruebas fitoquímicas de *Lock De Ugaz O; 1988*, mediante cambios de coloración o formación de precipitados. Se usó 0,5 g del extracto seco y se disolvió en 1 mL de etanol al 70 %; luego se colocó 0,1 mL de ésta solución en tubos de ensayos, a los cuales se añadió los diferentes reactivos, como se indica en la tabla 1.

Tabla 1. Pruebas para la determinación del análisis fitoquímico cualitativo de las hojas de *Plantago lanceolata* L. (llantén menor).

Prueba de caracterización	Metabolitos secundarios
Reacción de Ninhidrina	Grupos aminos libres
Reacción de Shinoda	Flavonoídes
Reacción de Tricloruro férrico 1 %	Compuestos fenólicos
Reacción de la Gelatina – sal 1 %	Taninos
Reacción de Dragendorff/ Mayer/Wagner	Alcaloides
Reacción de Lieberman – Burchard	Esteroides
Reacción de Bornträger	Quinonas
Prueba de la espuma	Saponinas

3.9.1.4. Inducción de úlcera gástrica con una dosis única de indometacina.

Se realizó según el método de (Arroyo *et al*, 2012), para este ensayo los animales de experimentación fueron sometidos a acondicionamiento en el ambiente del laboratorio por una semana: condiciones de ciclo de luz – día de 12 horas, temperatura de 22 – 26 °C, agua y alimentos *ad libitum*. Se les privó de agua y alimentos 18 horas antes del inicio del ensayo. Se formaron 6 grupos de cada uno con 06 animales:

- a. Grupo 1 control: suero fisiológico 4 mL/kg peso vía orogástrica (VO)
- b. Grupo 2 Indometacina 80 mg/kg por vía subcutánea (VSC)
- c. Grupo 3 Indometacina 80 mg/kg VSC + extracto hidroalcohólico 200 mg/kg VO
- d. Grupo 4 Indometacina 80 mg/kg VSC + extracto hidroalcohólico 400 mg/kg VO
- e. Grupo 5 Indometacina 80 mg/kg VSC + omeprazol 20mg/kg VO
- f. Grupo 6 Indometacina 80 mg/kg VSC + ranitidina 100mg/kg VO

Los tratamientos fueron administrados por vía oral a las 24 horas, 12 horas y sesenta minutos antes de la administración de la Indometacina a 80 mg/kg disuelta en NaHCO₃ al 4 % por vía subcutánea. Los animales se sacrificaron 6 h después y los estómagos se abrieron por la curvatura mayor, fueron lavados delicadamente con suero fisiológico para eliminar el detritus y fijados en una placa de tecnopor (poliestireno expandido) para la observación macroscópica y cuantificación de las lesiones gástricas (hiperemia, hemorragias, edemas, úlceras); luego fueron colocados en un recipiente con formol tamponado (Formol 10 % (100 mL) + sodio fosfato monobásico monohidratado (4 g) + sodio fosfato dibásico anhidro (6,5 g) + agua destilada csp un litro) para el estudio microscópico. La severidad de las lesiones gástricas se analizó por observación directa con ayuda de una lupa de aumento y se evaluó de acuerdo con el método de cálculo del índice ulceroso.

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

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

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

3.9.1.5. Determinación de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L.

La toxicidad aguda se refiere al desarrollo rápido de síntomas y efectos después de la aplicación de una dosis única relativamente alta o comúnmente se relaciona con los daños inmediatos generados por dosis únicas suficientemente grandes (Arencibia *et al.*, 2003).

Los animales de experimentación adaptados a las condiciones de laboratorio, fueron marcados y pesados el día del ensayo experimental para el cálculo de las dosis respectivas por grupo experimental. Se utilizó

20 ratones divididos al azar en 05 grupos de 04 animales. Los animales de experimentación fueron distribuidos en los siguientes grupos:

- a. Grupo 1: Agua destilada 4 mL/kg Vía orogástrica (VO)
- b. Grupo 2: Extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L. a dosis de 500 mg/kg (VO)
- c. Grupo 3: Extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L. a dosis de 1000 mg/kg (VO)
- d. Grupo 4: Extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L. a dosis de 1500 mg/kg (VO)
- e. Grupo 5: Extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L. a dosis de 2000 mg/kg (VO)

Se administró a las dosis determinadas los extractos en forma respectiva por vía orogástrica por una sola vez y se realizó la observación de los animales por un tiempo de 14 días, contando el número de muertes desde el primer día hasta el día 14 (Arencibia *et al.*, 2003).

3.10. Análisis e interpretación de la información

Los datos obtenidos fueron analizados con el software SPSS 15.0. Para la comparación de grupos se usó la estadística descriptiva. Los datos fueron presentados en valores medios \pm desviación estándar, porcentajes, teniendo en cuenta un intervalo de confianza del 95 %. Se hizo el análisis de la Chi Cuadrada y la correlación de Pearson. Los hallazgos fueron considerados estadísticamente significativos utilizando una $p < 0,05$.

3.11. Consideraciones éticas

Es importante señalar que todos los animales fueron tratados de acuerdo a normas éticas, en concordancia con la guía para el cuidado y uso de animales con propósitos científicos elaborada por la National Advisory Committee for Laboratory Animal Research, 2004.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. DEL ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO de *Plantago lanceolata* L.

Tabla 2. Compuestos presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Plantago lanceolata* L. (*Llantén menor*)

Prueba de caracterización	Resultado	Grupo de Metabolito secundario
Reacción de la Gelatina	(+)	Taninos
Reacción con Cloruro Férrico	(+)	Compuestos Fenólicos
Reacción de Dragendörff	(+++)	Alcaloides
Reacción de Wagner	(+)	Alcaloides
Reacción Mayer	(+)	Alcaloides
Reacción de Shinoda	(+++)	Flavonoides
Reacción de Bornträger	(++)	Quinonas
Reacción de Lieberman-Burchard	(+)	Triterpeno y/o esteroides
Prueba de la Espuma	(-)	Saponinas

(++++) muy abundante cantidad, (+++) abundante cantidad, (++) regular cantidad, (+) poca cantidad.

4.2. DEL EFECTO ANTIULCEROSO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO de *Plantago lanceolata* L.

Tabla 3. Evaluación de hiperemia en la mucosa gástrica en un modelo experimental de úlcera gástrica inducida por Indometacina.

Grupo	Sin lesión	Leve	Moderado	Severo
SSF 2 mL/kg	6	0	0	0
Indometacina 80 mg/kg (I)	0	0	1	5
I + Extracto 200 mg/kg	2	4	0	0
I + Extracto 400 mg/kg	5	1	0	0
I + Omeprazol 20 mg/kg	1	2	2	1
I + Ranitidina 100 mg/kg	0	3	2	1

Los números descritos en la tabla representan el número de estómagos que presentaron dichas características de acuerdo a la lesión, considerándose como número máximo por grupo de 06 animales. $p < 0,05$; I: Indometacina.

Tabla 4. Edema en la mucosa gástrica de los animales de experimentación.

Grupo	Sin lesión	Leve	Moderado	Severo
SSF 2 mL/kg	5	1	0	0
Indometacina 80 mg/kg (I)	0	0	0	6
I + Extracto 200 mg/kg	3	3	0	0
I + Extracto 400 mg/kg	6	0	0	0
I + Omeprazol 20 mg/kg	1	3	2	0
I + Ranitidina 100 mg/kg	0	1	5	0

Los números descritos en la tabla representan el número de estómagos que presentaron dichas características de acuerdo a la lesión, considerándose como número máximo por grupo de 06 animales. $p < 0,05$; I: Indometacina.

Tabla 5. Hemorragia puntiforme en la mucosa gástrica de los animales de experimentación.

Grupo	Sin lesión	Leve	Moderado	Severo
SSF 2 mL/kg	5	1	0	0
Indometacina 80 mg/kg (I)	0	0	0	6
I + Extracto 200 mg/kg	2	4	0	0
I + Extracto 400 mg/kg	6	0	0	0
I + Omeprazol 20 mg/kg	6	0	0	0
I + Ranitidina 100 mg/kg	0	2	3	1

Los números descritos en la tabla representan el número de estómagos que presentaron dichas características de acuerdo a la lesión, considerándose como número máximo por grupo de 06 animales. $p < 0,05$; I: Indometacina.

Tabla 6. Evaluación de úlcera en la mucosa gástrica en un modelo experimental de úlcera gástrica inducida por indometacina.

Grupo	Sin lesión	Leve	Moderado	Severo
SSF 2 mL/kg	5	1	0	0
Indometacina 80 mg/kg (I)	0	0	0	6
I + Extracto 200 mg/kg	2	4	0	0
I + Extracto 400 mg/kg	6	0	0	0
I + Omeprazol 20 mg/kg	6	0	0	0
I + Ranitidina 100 mg/kg	0	2	3	1

Los números descritos en la tabla representan el número de estómagos que presentaron dichas características de acuerdo a la lesión, considerándose como número máximo por grupo de 06 animales. $p < 0,05$; I: Indometacina.

Tabla 7. Hemorragia lineal en la mucosa gástrica.

Grupos	Sin lesión	Leve	Moderado	Severo
SSF 2 mL/kg	6	0	0	0
Indometacina 80 mg/kg (I)	0	0	0	6
I + Extracto 200 mg/kg	4	2	0	0
I + Extracto 400 mg/kg	6	0	0	0
I + Omeprazol 20 mg/kg	4	1	1	0
I + Ranitidina 100 mg/kg	0	3	3	0

Los números descritos en la tabla representan el número de estómagos que presentaron dichas características de acuerdo a la lesión, considerándose como número máximo por grupo de 06 animales. $p < 0,05$; I: Indometacina.

Tabla 8. Porcentaje de inhibición del índice de ulceración de la mucosa gástrica en un modelo experimental de úlcera gástrica inducida por indometacina.

Grupo	% Inhibición
Extracto 200 mg/kg	83,1
Extracto 400 mg/kg	98,9
Omeprazol 20 mg/kg	67,4
Ranitidina 100 mg/kg	44,9

Evaluación del número de úlceras gástricas por cada grupo experimental.

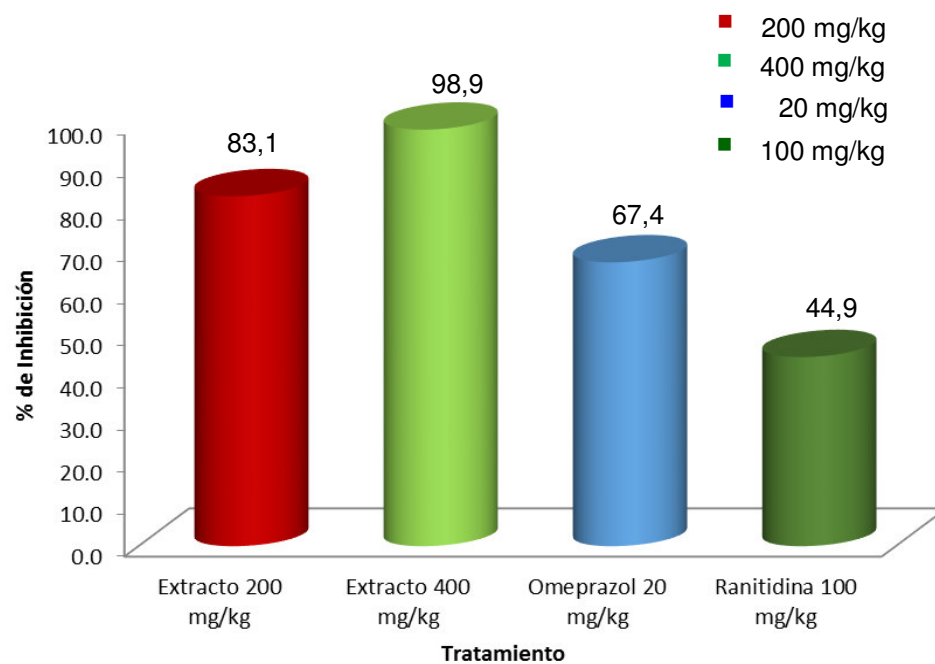


Figura 2. Porcentaje de inhibición del índice de ulceración.

EXAMEN MACROSCÓPICO DE LA MUCOSA GÁSTRICA



Figura 3. Mucosa gástrica de Rattus Norvegicus del grupo control negativo, tratado con SSF 4 ml/kg (VO), no presenta lesiones

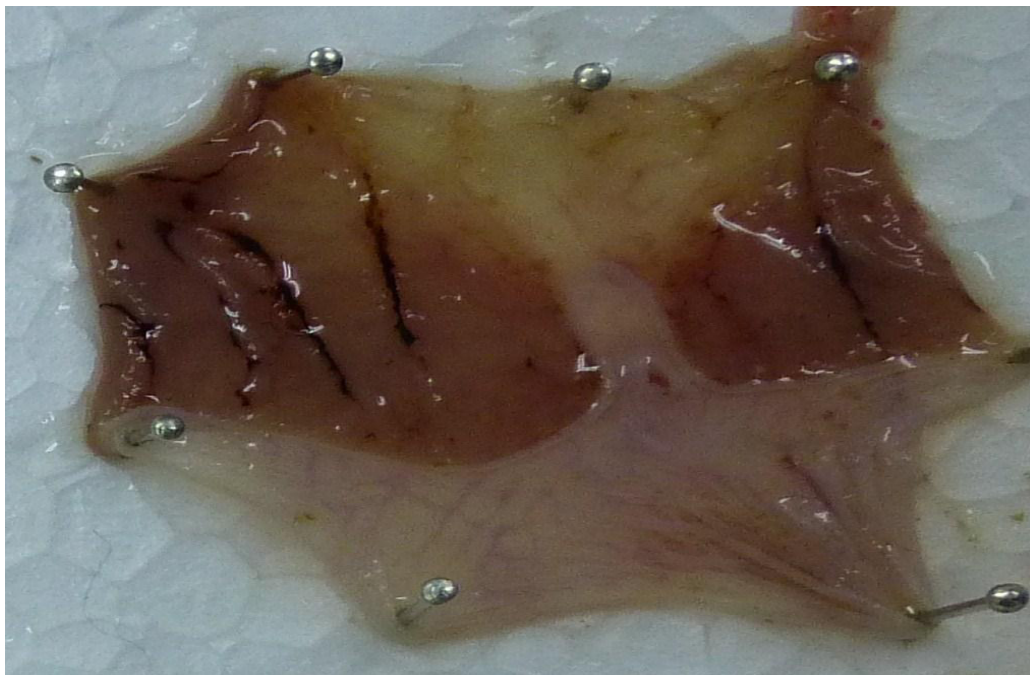
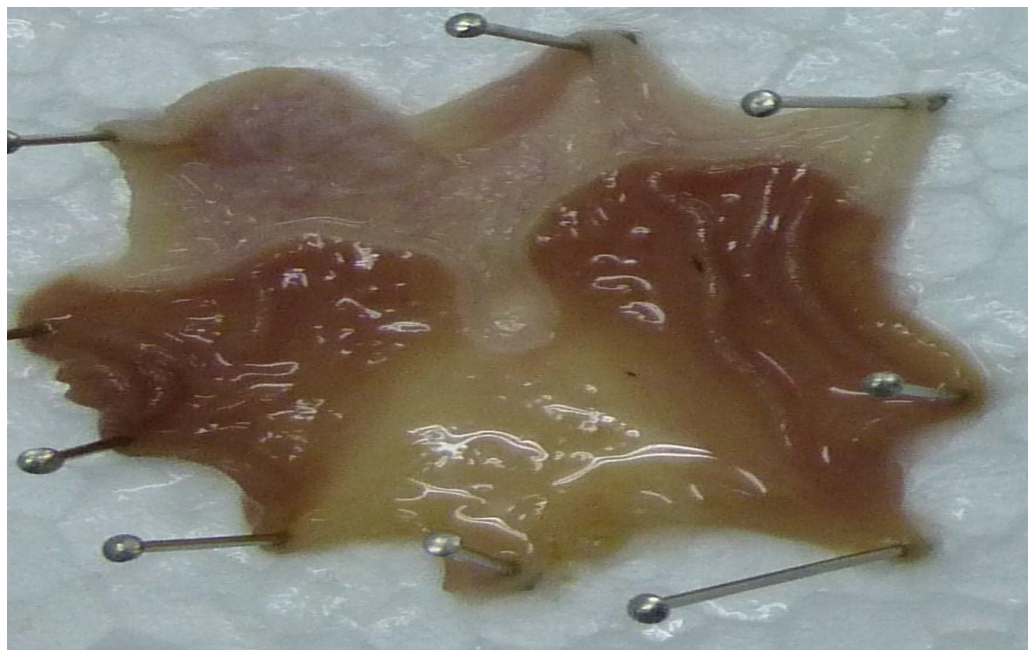


Figura 4. Mucosa gástrica de rattus norvegicus del grupo 2 tratados con indometacina 80 mg/kg (VSC); presenta lesiones



Figura 5. Mucosa gástrica grupo 3 tratado con extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L. de 200 mg/kg (VO)



*Figura 6. Mucosa gástrica grupo 4 tratado con extracto de hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L. 400 mg/kg (VO).*

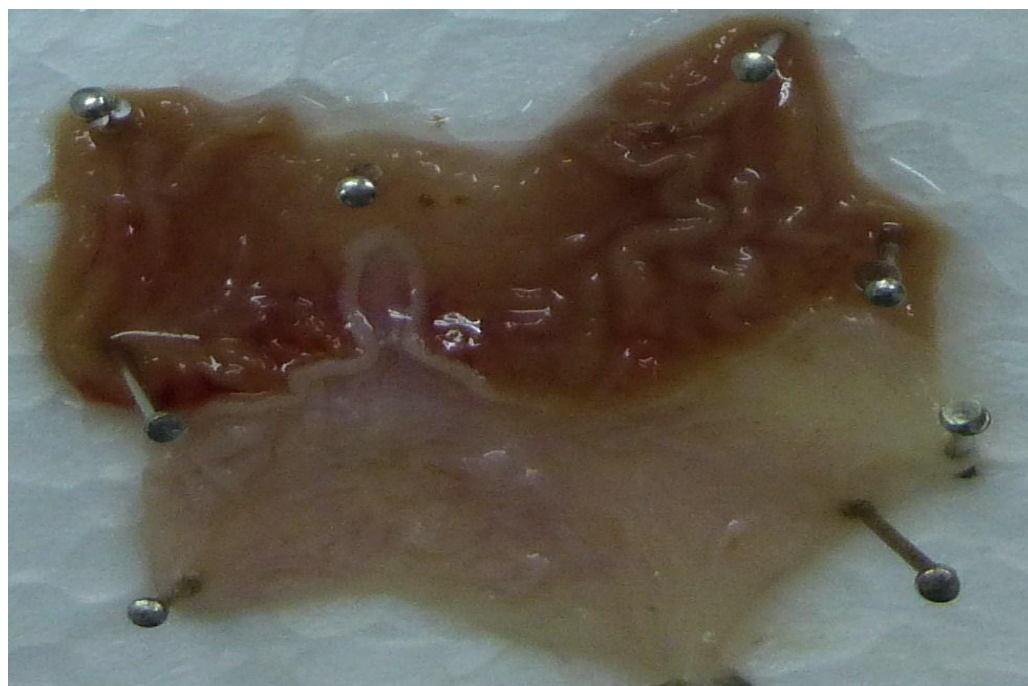


Figura 7. Mucosa gástrica grupo 5 tratado con omeprazol 20 mg/kg (VO)



Figura 8. Mucosa gástrica grupo 6 tratado con ranitidina 100 mg/kg (VO).

EXAMEN MICROSCÓPICO DE LA MUCOSA GÁSTRICA

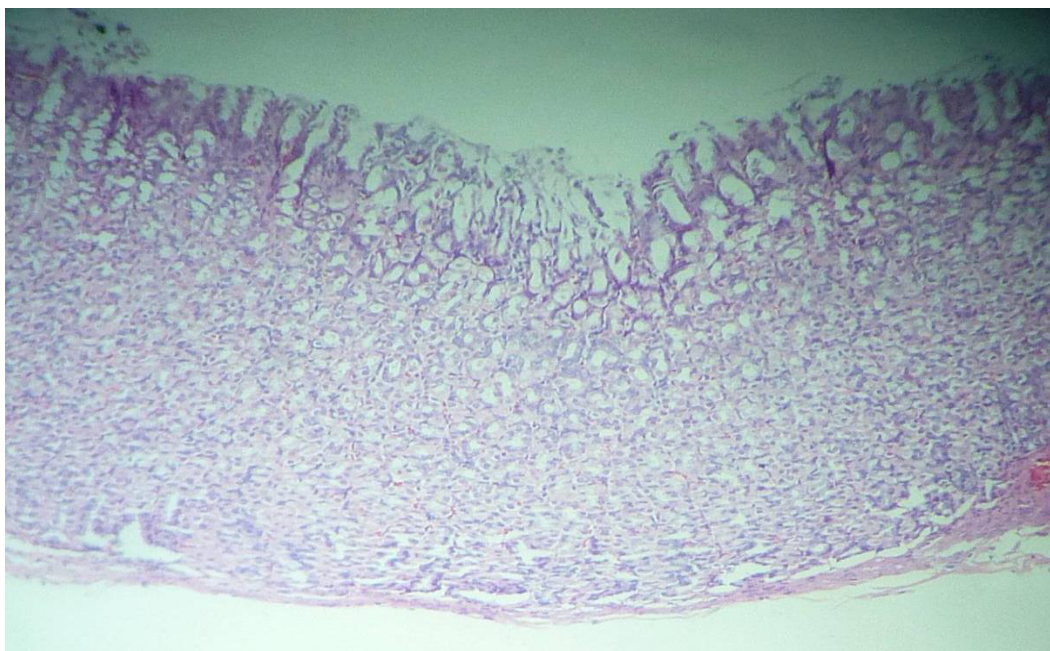


Figura 9. Corte histológico de mucosa gástrica de Rattus Norvegicus grupo 1 control. Sin alteraciones histológicas significativas 100X.

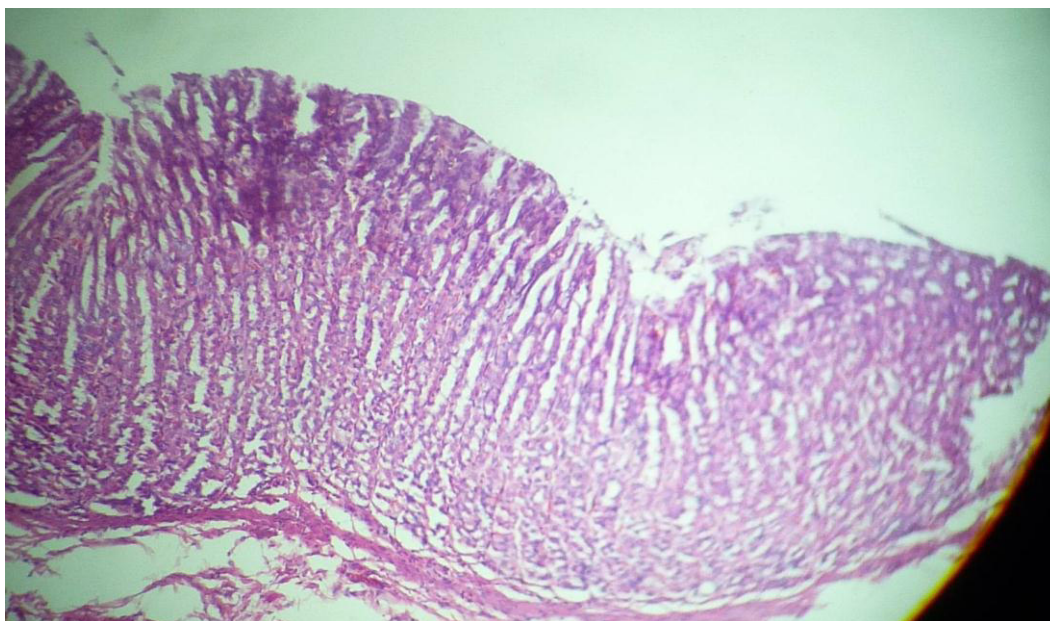


Figura 10. Corte histológico de mucosa gástrica de grupo 2 tratado con indometacina 80mg/kg (VSC), se observa gastritis erosiva 100X.

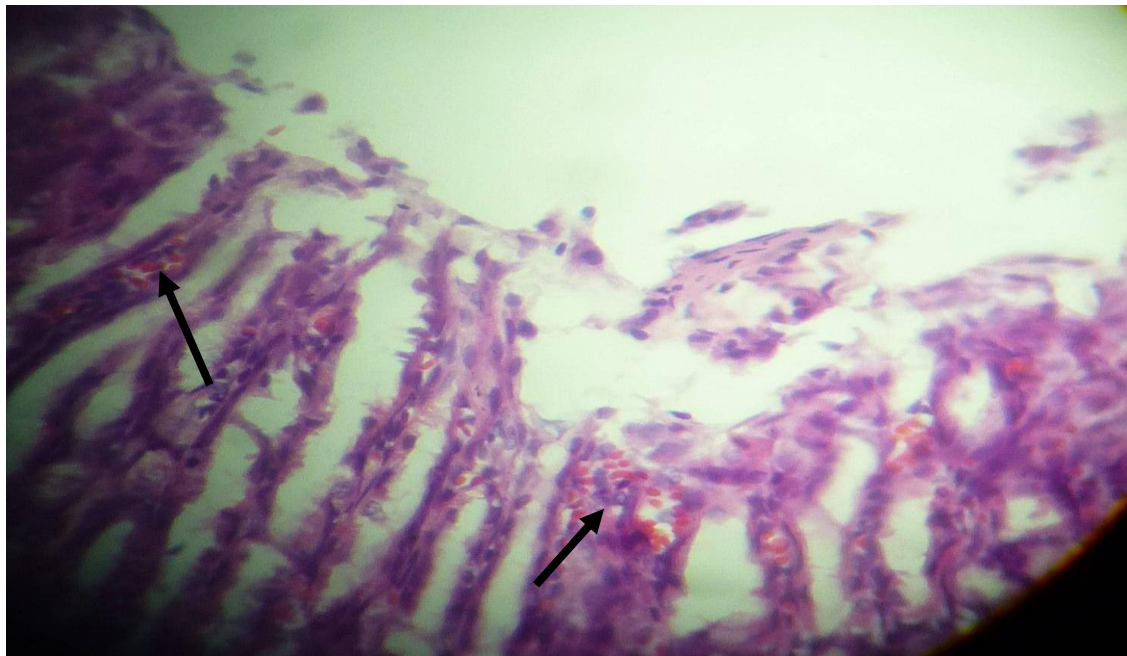


Figura 11. Corte histológico de mucosa gástrica de grupo 2 tratado con indometacina 80 mg/k (VO) Obsérvese la congestión de vasos sanguíneos (flechas). 100X.

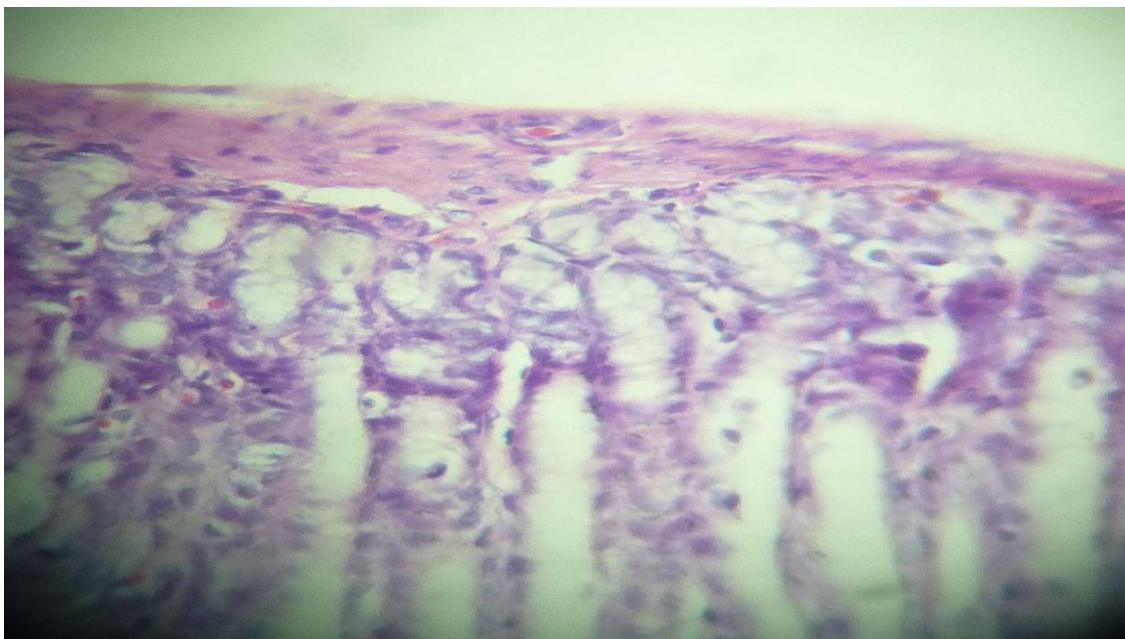


Figura 12. Corte histológico de mucosa gástrica de grupo extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L. 200 mg/kg, Sin alteraciones histológicas significativas 100X.

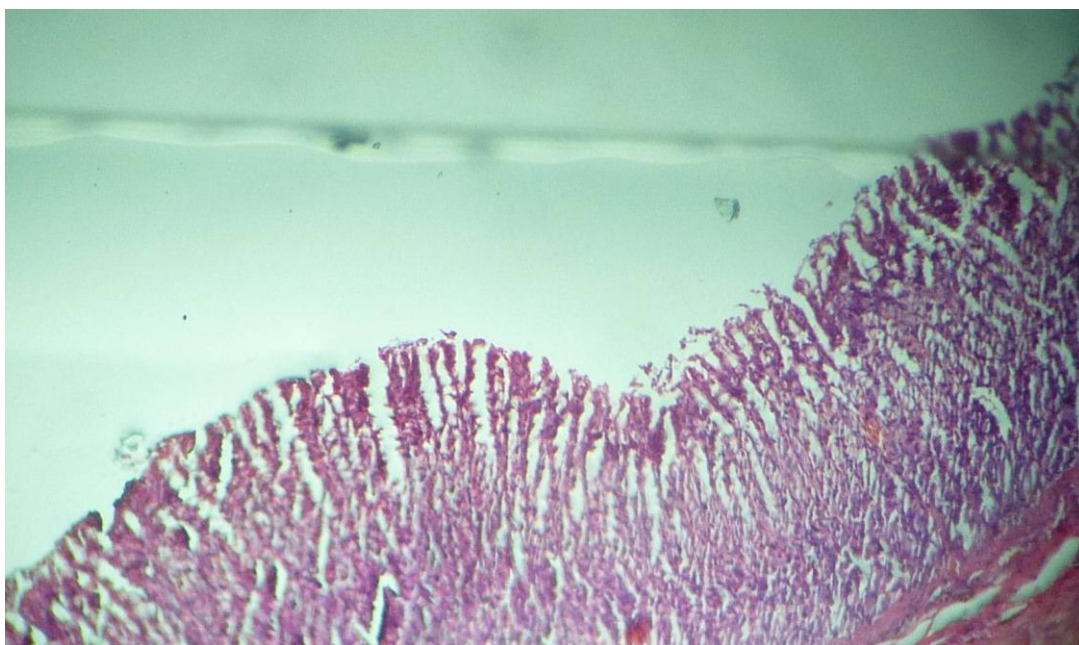


Figura 13. Corte histológico de mucosa gástrica de grupo 4 tratado con extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L. 400 mg/kg, Sin alteraciones histológicas significativas 100X.

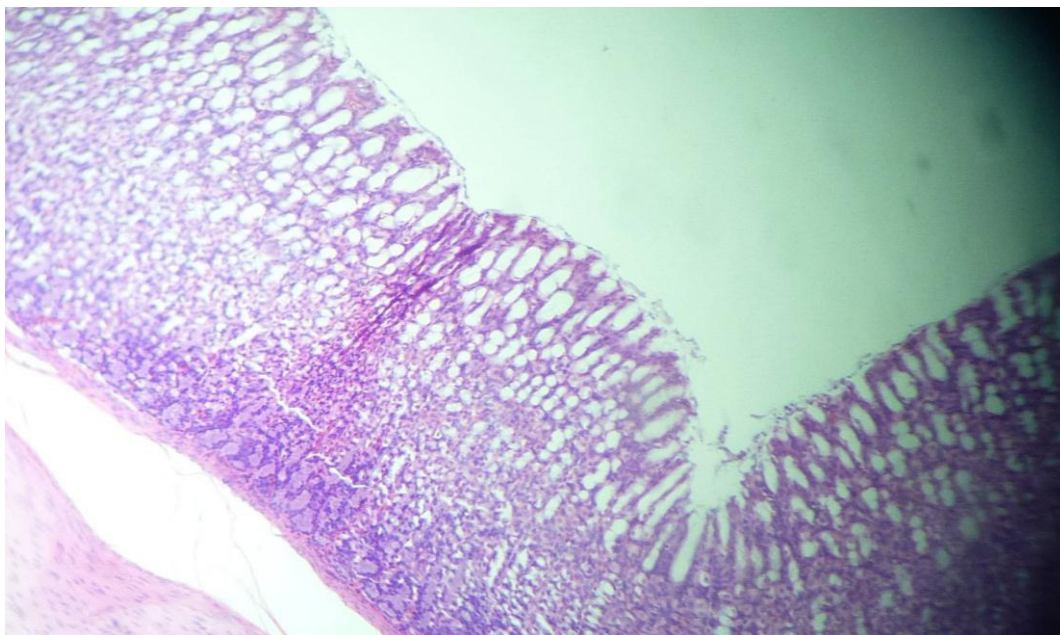


Figura 14. Corte histológico de mucosa gástrica de grupo 5 tratado con omeprazol 20mg/kg (VO) Sin alteraciones histológicas significativas. 100X.

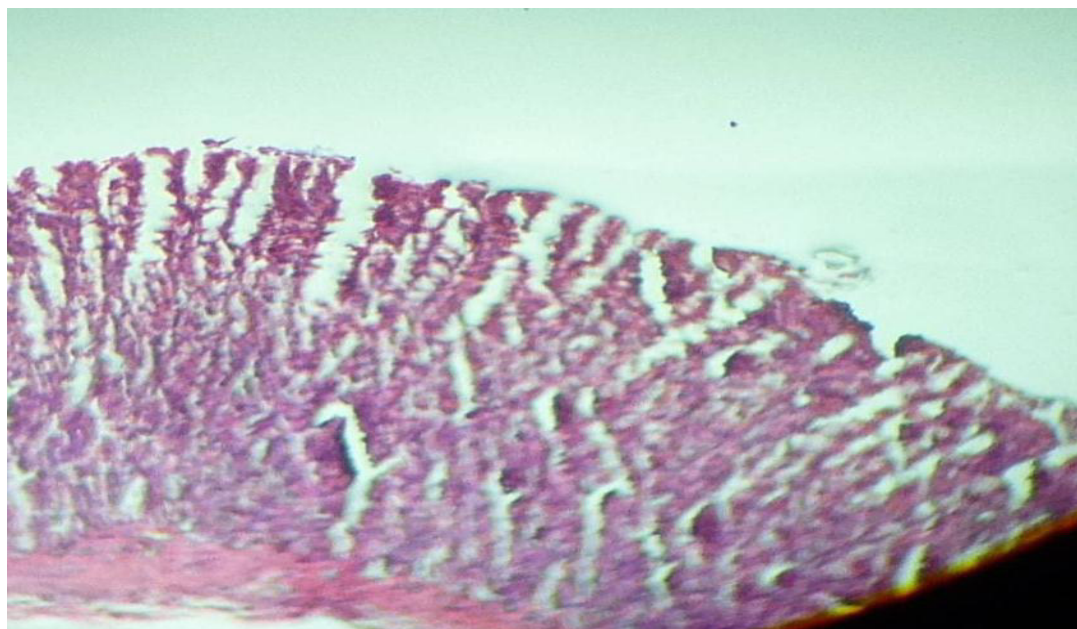


Figura 15. Corte histológico de mucosa gástrica de grupo 6 tratado con ranitidina 80mg/kg (VO), Sin alteraciones histológicas significativas 100X.

4.3. **DE LA DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO**

En el ensayo de toxicidad aguda no se produjeron muertes ni signos tóxicos posteriores a la administración de 500, 1000, 1500 y 2000 mg/kg durante 14 días de observación. En la parte clínica se evaluaron caída de pelo, cambio de coloración en los ojos, agresividad o pasividad, alimentación a través de la cantidad de comida que sobraron, los cuales no se presentaron cambios durante el estudio experimental en relación al grupo control. La supervivencia fue de un 100 por ciento, siendo esto un indicador de que la DL_{50} del extracto hidroalcohólico por vía oral es superior a los 2000 mg/Kg de peso corporal. La necropsia no arrojó ninguna alteración macroscópica de los órganos examinados (hígado, riñón, cerebro, corazón y pulmón).

DISCUSIÓN

Los objetivos del presente estudio fueron investigar si el extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L. presenta efecto antiulceroso en las ratas, realizar el análisis fitoquímico cualitativo y evaluar la toxicidad aguda in vivo durante 14 días de tratamiento por vía oral en ratones.

En el estudio fitoquímico cualitativo (tabla 2) el extracto hidroalcohólico mostró la presencia de flavonoides, compuestos fenólicos, alcaloides y triterpenos y/o esteroides. Estos resultados concuerdan con lo obtenido por Haile K., 2013 en donde determinó la presencia de flavonoides, saponina, antraquinonas, taninos, esteroides compuestos fenólicos y glicósidos en extracto metanólico de *Plantago lanceolata* L. Asimismo, Al-jumaly, E., et al, 2012, determinó la presencia de taninos en el extracto etanólico. Otros autores como Abdul –Ratha, H., 2012 encontraron la presencia en el extracto etanólico de las hojas de *P. lanceolata* compuestos fenólicos, coumarinas, esteroides, terpenoides, resinas, saponinas, flavonoides, taninos y glicosidos y Oancea A., et al., 2013, encontró la presencia de taninos, triterpenoides y glicósidos en extracto acuoso e hidroalcohólico.

Se ha buscado determinar el efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L., utilizando a la indometacina como inductor de úlceras a una sola dosis por vía subcutánea, en donde se demostró que la indometacina produce la úlcera gástrica en los animales de experimentación que no reciben tratamiento.

Según los resultados de la presente investigación el extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L. presentó efecto antiulceroso en los animales de experimentación utilizando como inductor la indometacina a una dosis de 80 mg/kg, la administración del extracto y de los

medicamentos estándar fue a las 24, 12 y 1 hora antes de la administración de indometacina.

De acuerdo a las tablas 3, 4, 5, 6 y 7 se observa la evaluación de los indicadores descritos como son hiperemia, edema, úlceras y hemorragias, en donde se determinó el efecto antiulceroso y gastroprotector del extracto hidroalcohólico a dosis de 200 y 400 mg/kg comparado con el grupo que sólo recibió indometacina quienes presentaron un daño severo de la mucosa gástrica visualizándose macroscópicamente los indicadores evaluados.

De acuerdo a las tablas 8, 9, 10, 11, 12 (anexo 1) se describe el análisis estadístico inferencial de la Chi cuadrada de Pearson, en donde existe diferencia significativas en todos los grupos tratados (extractos, omeprazol y Ranitidina) en comparación al grupo indometacina, demostrando de esta manera que el extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata L.* presenta efecto antiulceroso. ($p < 0,05$).

De la tabla 7 y figura 2 se describen que el extracto hidroalcohólico a la dosis de 400 mg/kg presentó mejor efecto antiulceroso de todos los tratamiento administrados, con un porcentaje de inhibición de 98,9 %; seguido del extracto a dosis de 200 mg/kg (83,1 %), omeprazol (67,4 %) y ranitidina (44,9 %).

De acuerdo a estudios realizados, se puede apreciar que los compuestos fenólicos, en especial los flavonoides, parecen ser los metabolitos determinantes en la protección de la mucosa gástrica. Numerosos mecanismos han sido propuestos para explicar el efecto gastroprotector de los flavonoides, como por ejemplo el aumento del contenido mucosal de prostaglandinas, disminución de la secreción de histamina, eliminación de radicales libres, aumento de la perfusión vascular y reducción de la adherencia leucocitaria. Algunos de ellos, reducen la motilidad gastrointestinal prolongado el tiempo de contacto de los extractos con las

paredes del estómago y aumentando de esta manera el efecto antiulceroso y gastroprotector. Por tanto previenen lesiones en la mucosa gástrica inducida por diferentes métodos y la protegen contra distintos agentes necróticos (Pizarro, A., *et al*; 2012).

Otros estudios citados por Edwin, E; *et al*, 2007; describen que los flavonoides, saponinas, taninos y aceites volátiles de algunas plantas presentan una evidente actividad antiulcerosa. Asimismo la presencia de taninos estaría relacionada al efecto antiulceroso. (Al-Jumaily, E., *et al*; 2012).

De las figuras 9 al 15 se observan los resultados del examen histopatológico, en donde en las figuras 10 y 11 se muestra el grupo Indometacina describiendo la presencia de gastritis erosiva y congestión vascular, pero en la parte descriptiva de las lecturas se halló lo siguiente: congestión vascular, empastamiento y precipitación proteica, hipotrofia de las glándulas e infiltración de macrófagos en el ápice. En los otros grupos si bien presentó algunas características mencionadas, estas no fueron significativas. Asimismo se puede mencionar que el corte histológico toma una muestra de la mucosa gástrica y que posiblemente no haya tomado las zonas ulceradas que se visualizan en la figura 10.

De los resultados obtenidos en el presente trabajo permiten concluir que el extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L. presenta un efecto antiulceroso que probablemente se deba a la presencia de flavonoides y taninos presentes en el extracto, esto debido a que el porcentaje de inhibición fue mayor para la dosis de 400 mg/kg y que los otros indicadores coadyuvan en el resultado final de la gastroprotección gástrica.

En relación a la determinación de la toxicidad aguda, el extracto hidroalcohólico no presento efecto toxico a las dosis evaluadas y que posiblemente la dosis letal 50, se encuentra por encima de 2000 mg/kg.

Las observaciones realizadas durante 14 días para la evaluación de los diferentes signos clínicos, a nivel de ojos y membranas mucosas, piel y pelos, sistema circulatorio, sistema respiratorio, sistema autónomo y central, así como temblores, convulsiones, salivación, muerte u otras afectaciones, mostraron que en los animales tratados, a las dosis evaluadas, no se produjeron alteraciones clínicas. Además, macroscópicamente no tuvo lugar modificaciones en los órganos examinados.

CONCLUSIONES

1. El tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L. (llantén menor) contiene abundante cantidad de flavonoides, compuestos fenólicos y alcaloides; que actuando sinérgicamente serían los responsables de la actividad antiulcerosa.
2. En condiciones experimentales el extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L. (llantén menor) es antiulceroso en ratas siendo mejor que omeprazol y ranitidina.
3. No se ha evidenciado toxicidad durante los 14 días de observación en ratones, administrando dosis única del extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L. (llantén menor) y la DL 50 estaría sobre los 2000 mg/kg.

RECOMENDACIONES

- Es necesario realizar otros estudios farmacológicos con diferentes tipos de extracto para la contrastación del efecto antiulceroso.
- Se debería purificar el extracto hidroalcohólico para evidenciar el o los componentes y complementar con otros estudios farmacológicos y de toxicidad crónica y aguda.
- Se debería realizar estudios de genotoxicidad y mutagenicidad del extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdul –Ratha, H., Mohammad, A. (2012). Study the therapeutic role of Alcoholic Extract of *Plantago lanceolata* L. against infection with *Staphylococcus saprophyticus*. Proceeding of the Eleventh Veterinary Scientific Conference. 8-15
- Adelstein, G., Yen, Ch., Haak, R. (1988). Substituted 2- (2-benzimidazolylsulfinyl) methyl anilines as potential inhibitors of H⁺/K⁺ ATPase. *Journal of Medicinal Chemistry*, 31: 1215-20.
- Al-jumaly, E., Abdul-Ratha, H., Raheema, R. (2012). Extraction and purification of tannins from *Plantago lanceolata* L. and assessment their antibacterial activity on pathogenesis of enteropathogenic *E.coli in vitro* and *in vivo*. *Trends in life sciences*, 1(1): 17-21.
- Alvarez, A., Robaina, Y., Sánchez, E., Cuevas, M. (1996). Efecto antiulceroso de una solución viscosa oral a partir de un extracto de *Bidens pilosa* L. (romerillo) en ratas. *Rev Cubana Plant Med*, 1(1):25-29.
- Alvarez, A., Ramos, I., Robaina, Y., Pérez, G., Cuevas, M., Carrillo, C., (1996). Efecto antiulceroso de formulas que contienen un extracto de *Aloe vera* L. (Sabila). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 1(3):31-36.
- Arencibia, D., Rosario, L., López, Y., Fariñas, M., Infante, J., Díaz, D., et al. (2003). Algunas consideraciones sobre la determinación de la toxicidad aguda. *Revista de toxicología*, 1: 1-15.
- Arroyo, J., Rojas, J., Chenguayen, J. (2004). *Manual de Modelos Experimentales de Farmacología*. Lima: Publicaciones ASDIMOR.

- Arroyo J, Barreda A, Ráez E, Jurado B, Moral G, Martínez J, et al. (2007). El extracto etanólico de las flores de *Laccopetalum giganteum* (pacra-pacra) aumenta la fertilidad en ratas. *Anales de la Facultad de Medicina*, 68 (3): 238-243.
- Arroyo, J., Almora, Y., Quino, M., Martínez, J., Condorhuamán, M., Flores, M., et al. (2009). Efecto citoprotector y antisecretor del aceite de *Copaifera officinalis* en lesiones gástricas inducidas en ratas. *Anales de la Facultad de Medicina*, 70(2):89-96.
- Brunton, L., Lazo, J., Parker, K. (2006). *Fármacos para el control de la acidez gástrica y tratamiento de úlceras pépticas*. Goodman LS. Gilman A, Hardman J. *Bases farmacológicas de la terapéutica*. (11a ed.). New York: McGraw-Hill.
- Carvajal, N., Canavari, D., Callejas, M., Carrasco, P. (2011). Efecto terapéutico en el tratamiento del Acné Vulgar usando principios activos de *Melissa officinalis* L. y *Plantago lanceolata* L. *Revista Científica Ciencia Médica*, 14(2), 24-27.
- Cotran, S., Robbins, K. (2002). *Patología Estructural y Funcional*. (6ª ed). Madrid: McGraw-Hill-Interamericana.
- Dávalos, JP., Bustamante, Z. (2008). Evaluación de la actividad gastroprotectora de los extractos de llantén (*Plantago major*). *BIOFARBO*, 16:36-41.
- Edwin, E., Sheeja, E., Toppo, E., Tiwari, V., Dutt, Kr. (2007). Efecto antimicrobiano, antiulceroso y antidiarreico de las hojas de buganvilla (*Bougainvillea glabra* Choisy). *Ars Pharmaceutica*, 48 (2): 135-144.

- Esplugues, J., Flórez, J. *Farmacología de Flores*. (10a ed.). New York: McGraw-Hill; 1990. p. 757-776.
- Fellenius, I., Berglindh, T., Sachs, G., Olbe, L., Elander, B., Sjostrand, S. *et al.* (1981). *Nature*, 290: 159-61.
- Gómez, M., Lama, S., Bafalluy, M., Manzano, S., Corrales, P. (1997). Utilización Terapéutica del Omeprazol. *Farmacia Hospitalaria*, 21 (5): 243-56.
- Haile, K. (2013). Antimicrobial activity and phytochemical screening of crude extracts of medicinal plants grown in eastern Ethiopia. *International Journal of pharma and bio sciences*, 4(4): 326 – 33.
- Hernández, R., Noa, G., Domínguez C., Mora I., Osorio M.F., & Pomares, Y. (2013). Caracterización de pacientes con úlceras pépticas negativas a *Helicobacter pylori*. *Medisur*, 11(4), 494-507.
- Hoogerwerf, W., Pasricha, P. (2001). Agents used for the control of gastric acidity and treatment of peptic ulcers and gastrooesophageal reflux diseases. In: Hardman J, Limbrid L, Goodman C, Gilman B, editors. *Goodman and Gilman's: The pharmacological Basis of Therapeutics*. 10th ed. New York: McGraw-Hill.
- Haddadian, K., Haddadian, K., Zalmatkash, M. (2014). A review of *Plantago* plant. *Indian journal of traditional knowledge*, 13(4):681-85.
- Kobeasy, Ml., Abdel-Fatah, OM., Abd El-Salam SM., Mohamed, ZM. (2011). Biochemical studies on *Plantago major* L. and *Cyamopsis tetragonoloba* L. *International Journal of Biodiversity and Conservation*, 3(3):83-91.

- Kobeasy, M.I., Abdel-Fatah, O.M., Abd El-Salam S.M., Mohamed, Z.M. (2013). Gastroprotective effect of *Plantago major* L. against gastric injury induced by aspirin in rats. *Journal of Chemica Acta*, 2:86-91.
- Mardh, S., Song, Y., Wallmark, B. (1988). Effects of some antisecretory drugs on acid production, intracellular free Ca^{2+} and cyclic AMP production in isolated pig parietal cells. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 23:977-82.
- Melese, E., Asres, K., Asad, M., Engidawork, E. (2011). Evaluation of the antipeptic ulcer activity of the leaf extract of *Plantago lanceolata* L. in rodents. *Phytotherapy research*, 25:1174-80.
- Montes, P., Salazar, S., Monge, E. (2007). Cambios en la Epidemiología de la Úlcera Péptica y su Relación con la Infección con *Helicobacter Pylori*. Hospital Daniel Carrion 2000-2005. *Revista de Gastroenterología del Perú*, 27: 382-88.
- National Advisory Committee for Laboratory Animal Research. (2004). Guideline on the care and use of animals for scientific purposes. [Artículo en línea] Publicado en 2004. Disponible en: <http://www3.ntu.edu.sg/Research2/Grants%20Handbook/NACLAR-guide%20Lines.pdf>.
- Oancea, A., Roată, G., Popescu, S., Păun, L., Mateescu, I., Toma, A.E., Gaspar, A., Sidoroff, M. (2013). Phytochemical screening of the bioactive compounds in the most widespread medicinal plants from calarasi - silistra cross - border area. *Bulletin of the Transilvania University of Braşov. Series II. 6 (55): 135-142.*
- Palmeiro, N.S., Esteves, C., Ghedini, P.C., Goulart, L.S., Baldisserotto, B. (2002). Analgesic and anti-inflammatory properties of *Plantago australis* hydroalcoholic extract. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 21(2): 89-92.

- Pedrol, J., (1980). *Plantago L.* in: Castroviejo & al. (eds.), *Flora iberica* vol. XIII, recuperado el 20 de agosto de 2014, de <http://www.floraiberica.es/>.
- Pizarro, A., Valido A., Santiesteban D., Valdes, M., Mena Y. (2012). Evaluación del actividad gastroprotectora de *Matricaria recutita* en ratas Sprague Dawley. *Revista electrónica de veterinaria*, 13(8): 1-13.
- Ramirez, A. (2003). *Helicobacter pylori* en el Perú. Cambios en el tiempo en su prevalencia y relación con la Patología Gastroduodenal. *Revista de Gastroenterología del Perú*, 23 (1): 1-3.
- Regalado, A., Sánchez, L., Mancebo, B. (2012). Tratamientos convencionales y medicina alternativa de la úlcera péptica. *Revista Cubana de Farmacia*, 46(1):127-37.
- Rodriguez, Y., Vera, L., Moreno, K., Montilla, J., Guevara., G, Gonzales R. (2014). Conocimiento sobre el uso del *Plantago major* como terapia alternativa en lesiones inflamatorias bucales. *Revista venezolana de investigación odontológica*, 2(2):106-15.
- Roesrch, C. (1994). *Plantas Medicinales en el Sur Andino del Perú*. Tomo 2. Perú: Koeltz Scientific Books. Centro De Medicina Andina (CEMA).
- Romero, J., Rodríguez, L. (2002). Tratamiento de la úlcera péptica. *MEDIFAM*, 12 (5): 314 – 18.
- Sachs G, Shin J, Briring C, Wallmark B, Hersey S. (1995). The pharmacology of the gastric acid pump: the H+K+ATPase. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 35: 227-305.

- Samuelson, A. (2000). The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 71:1-21.
- Sieveers, G., Nanning S. (2006). Efecto de la alimentación suplementaria con *Plantago lanceolata* L. sobre la oviposición de parásitos gastrointestinales en terneros. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 38(3), 233-238.
- Schubert, M., Shamburek, R. (1990). Control of acid secretion. *Gastroenterology Clinics of North America*, 19: 1-25.
- Tamez, R., Rodríguez, C., Tamez, P., Weber, R., Gómez, R., Calderón, C. (2001). Activación de macrófagos y linfocitos *in vitro* por extractos metanólicos de hojas de *Plantago major*. *Ciencia UANL*, IV (3), 304-313.
- Valdés, R., Milián, P. (2003). Fisiopatología y Tratamiento médico de la úlcera duodenal. Zaragoza: Medicentro.
- Vecina, T. Farmacología de los Antiulcerosos. *Emergencias*, 14: S2-S13.
- Velasco, R., Tapia, R., Román, R., Vega, E., Pérez S. (2006). Effect of *Plantago major* on cell proliferation *in vitro*. *Journal of Ethnopharmacology*, 103: 36–42.
- Vizoso, A., Ramos, A., Villaescusa, A., Décalo, M., Betancourt, J. (2005). Evaluación del efecto genotóxico en extractos fluidos de *Plantago lanceolata* L. (Ilantén menor) y *Matricaria recutita* L. (manzanilla). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 5(2):59-63.
- Wolfe, M., Sachs, G. (2000). Acid suppression: optimizing therapy for gastroduodenal ulcer healing, gastroesophageal disease and stress-related erosive syndrome. *Gastroenterology*, 118: S9-S31.

ANEXO 1

Tabla 9. Test de Chi cuadrada del indicador de hiperemia.

	Valor	grados de libertad	Significancia
Chi cuadrada Pearson	44.2	15	0.000
Tasa de riesgo	48.2	15	0.000
Asociación lineal	0.95	1	0.329

Tabla 10. Test de Chi cuadrada del indicador de edema.

	Valor	grados de libertad	Significancia
Chi cuadrada Pearson	68.3	15	0.000
Tasa de riesgo	63.5	15	0.000
Asociación lineal	0.36	1	0.549

Tabla 11. Test de Chi cuadrada del indicador de hemorragia puntiforme.

	Valor	grados de libertad	Significancia
Chi cuadrada Pearson	62.0	15	0.000
Tasa de riesgo	58.7	15	0.000
Asociación lineal	0.09	1	0.761

Tabla 12. Test de Chi cuadrada del indicador de úlcera.

	Valor	grados de libertad	Significancia
Chi cuadrada Pearson	62.0	15	0.000
Tasa de riesgo	58.7	15	0.000
Asociación lineal	0.09	1	0.761

Tabla 13. Test de Chi cuadrada del indicador de hemorragia lineal.

	Valor	grados de libertad	Significancia
Chi cuadrada Pearson	60.2	15	0.000
Tasa de riesgo	57.7	15	0.000
Asociación lineal	0.01	1	0.933

ANEXO 2



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA



MUSEO DE HISTORIA NATURAL

CONSTANCIA N° 136-USM-2010

LA DIRECTORA DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (tallo y hojas) recibida del **Sr. MARCOS LEON VASQUEZ**, estudiante de Maestría de la Facultad de Farmacia de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ha sido estudiada y clasificada como: ***Plantago lanceolata* L.**, y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

ORDEN: SCROPHULARIALES

FAMILIA: PLANTAGINACEAE

GENERO: *Plantago*

ESPECIE: *Plantago lanceolata* L.

Nombre vulgar: "Llantén"

Determinada por: Mg. Joaquina Albán C. (Blgo. J. Campos)

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 26 de Julio de 2010.



Dra. Betty Millán Salazar.
DIRECTORA