

UNIVERSIDAD SAN PEDRO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
PROGRAMA DE ESTUDIO DE FARMACIA Y
BIOQUIMICA



**Efecto del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) sobre úlceras
gástricas inducidas por ácido acético en ratas.**

Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

Autores:

Acuña Vergaray Hilden Farah

Guerrero Aniceto Miguel Arturo

Asesor:

Torres Solano, Carol Giovanna

ORCID: 0000-0002-2313-3039

HUARAZ – PERÚ

2021

i.- INDICE

Pág.

Índice	i
Índice de tablas	ii
Índice de figuras	iii
Palabras clave	iv
Constancia de Originalidad	v
Título	vi
Resumen	vii
Abstract	viii
Introducción	1
Antecedentes y fundamentación científica	1
Justificación de la investigación	10
Problema	11
Marco Referencial	11
Hipótesis	22
Objetivos	23
Metodología	23
Tipo y Diseño de investigación	23
Población y Muestra	25
Técnicas e instrumentos de investigación	25
Resultados	28
Análisis y Discusión	35
Conclusiones	38
Recomendaciones	39
Agradecimientos	40
Referencias Bibliográficas	41
Anexos	46

ii.- Índice de tablas

Pág.

Tabla 1. Marcha fitoquímica del aceite de <i>Copaifera paupera</i> (Copaiba).....	31
---	----

iii.- Índice de figuras

Pág.

Figura 1. Número promedio de inflamación evaluar el efecto antiulceroso gástrico del aceite de <i>Copaifera paupera</i> (Copaiba) en ratas.	32
Figura 2. Porcentaje de eficacia antiinflamatoria al evaluar el efecto antiulceroso gástrico del aceite de <i>Copaifera paupera</i> (Copaiba) en ratas.	32
Figura 3. Número promedio de bandas hemorrágicas al evaluar el efecto antiulceroso gástrico del aceite de <i>Copaifera paupera</i> (Copaiba) en ratas.	33
Figura 4. Porcentaje de eficacia contra las bandas hemorrágicas al evaluar el efecto antiulceroso gástrico del aceite de <i>Copaifera paupera</i> (Copaiba) en ratas.	33
Figura 5. Número promedio de úlceras al evaluar el efecto antiulceroso gástrico del aceite de <i>Copaifera paupera</i> (Copaiba) en ratas.	34
Figura 6. Porcentaje de actividad antiulcerosa al evaluar el efecto antiulceroso gástrico del aceite de <i>Copaifera paupera</i> (Copaiba) en ratas.	35

iv.-Palabras clave

Tema	Fitoquímica
Especialidad	Úlcera gástrica

Keywords

Subject	phytochemistry
Speciality	pharmacology

Linea de investigación	Recursos naturales y terapéuticos
Área	Ciencias médicas y de la salud
Subárea	Medicina básica
Disciplina	Farmacología y farmacia

v.- Constancia de Originalidad



USP
UNIVERSIDAD SAN PEDRO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD

El que suscribe, Vicerrector de Investigación de la Universidad San Pedro:

HACE CONSTAR

Que, de la revisión del trabajo titulado "Efecto del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) sobre úlceras gástricas inducidas por ácido acético en ratas" del (a) estudiante: **Hilden Farah Acuña Vergaray**, identificado(a) con Código N° 1415100249, se ha verificado un porcentaje de similitud del 23%, el cual se encuentra dentro del parámetro establecido por la Universidad San Pedro mediante resolución de Consejo Universitario N° 5037-2019-USP/CU para la obtención de grados y títulos académicos de pre y posgrado, así como proyectos de investigación anual Docente.

Se expide la presente constancia para los fines pertinentes.

Chimbote, 3 de Octubre de 2022



UNIVERSIDAD SAN PEDRO
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

Dr. CARLOS URBINA SANJINES
VICERRECTOR



NOTA:

Este documento carece de valor si no tiene adjunta el reporte del Software TURNITIN.

www.usanpedro.edu.pe

Urbanización Luján del Norte N° 21
Teléfono: 043 - 483270
vicerrectorado.investigacion@usanpedro.edu.pe
https://www.usanpedro.edu.pe



USP
UNIVERSIDAD SAN PEDRO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD

El que suscribe, Vicerrector de Investigación de la Universidad San Pedro:

HACE CONSTAR

Que, de la revisión del trabajo titulado "Efecto del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) sobre úlceras gástricas inducidas por ácido acético en ratas" del (a) estudiante: Miguel Arturo Guerrero Aniceto, identificado(a) con Código N° 1414100357, se ha verificado un porcentaje de similitud del 23%, el cual se encuentra dentro del parámetro establecido por la Universidad San Pedro mediante resolución de Consejo Universitario N° 5037-2019-USP/CU para la obtención de grados y títulos académicos de pre y posgrado, así como proyectos de investigación anual Docente.

Se expide la presente constancia para los fines pertinentes.

Chimbote, 3 de Octubre de 2022


UNIVERSIDAD SAN PEDRO
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN
Dr. CARLOS URBINA SANJINES
VICERRECTOR



NOTA:

Este documento carece de valor si no tiene adjunta el reporte del Software TURNITIN.

www.usanpedro.edu.pe

Urbanización Ladera del Norte H-11
Teléfono: 043 – 483070
vicerectorado.investigacion@usanpedro.edu.pe
<http://investigacion.usanpedro.edu.pe>

vi.- Título

Efecto del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) sobre úlceras gástricas inducidas por ácido acético en ratas.

vii.- Resumen

El presente proyecto tuvo como objetivo evaluar el efecto del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) sobre las úlceras gástricas inducidas por ácido acético en ratas, el estudio fue de tipo analítico, experimental, pre-clínico y se desarrolló en los Laboratorios de farmacología y fitoquímica, de la Facultad de Medicina Humana, de la Universidad San Pedro. La muestra estuvo conformada por 20 ratas cepa Holtzman, con pesos entre 180 ± 20 g, divididos en cinco grupos de cuatro ratas, el 1° grupo recibió SSF 4 mL/Kg, el 2° omeprazol 40 mg/kg y los grupos 3°, 4° y 5° aceite de copaiba volúmenes de 0.1, 0.2, y 0.4 mL respectivamente, se siguió el método de úlceras crónicas propuesto por Souccar y Lapa 2002, donde se administró 0,5 ml de ácido acético vía intragástrica a las ratas previa laparotomía, posterior a los tratamientos se sacrificaron y se les retiró los estómagos y se evaluó la inflamación, bandas hemorrágicas y úlceras gástricas. La marcha fitoquímica evidenció la presencia de flavonoides y compuestos fenólicos en mayor cantidad, alcaloides y esteroides triterpénicos en regular cantidad y taninos y quinonas en poca cantidad. Asimismo se observó que evidenció que el aceite de Copaiba en volumen de 0,4 mL/Kg presentó mayor porcentaje de eficacia antiulcerosa (50%) tanto para inflamación, bandas hemorrágicas y úlcera, con actividad dosis dependiente. Se demostró que en condiciones experimentales el aceite *Copaiba paupera* presenta efecto antiulceroso en ratas con inducción de lesiones gástricas por ácido acético.

Palabras clave: Actividad cicatrizante, aceite, *Copaiba paupera*, *Ratas albinas*.

viii.-Abstract

The present project aimed to evaluate the effect of *Copaifera paupera* (Copaiba) oil on acetic acid-induced gastric ulcers in rats. The study was analytical, experimental, and pre-clinical, and was developed in the Pharmacology and Phytochemistry Laboratories of the Faculty of Human Medicine at San Pedro University. The sample consisted of 20 Holtzman strain rats, weighing between 180 ± 20 g, divided into five groups of four rats. The 1st group received SSF 4 mL/Kg, the 2nd omeprazole 40 mg/kg, and the 3rd, 4th, and 5th groups copaiba oil volumes of 0.1, 0.2, and 0.4 mL respectively. The chronic ulcer method proposed by Souccar and Lapa 2002 was followed, where 0.5 ml of acetic acid was administered intragastrically to the rats prior to laparotomy. After the treatments, they were sacrificed, their stomachs were removed, and inflammation, hemorrhagic bands, and gastric ulcers were evaluated. The phytochemical analysis showed the presence of flavonoids and phenolic compounds in greater quantity, alkaloids and triterpenic steroids in moderate quantity, and tannins and quinones in small quantity. It was also observed that Copaiba oil at a concentration of 0.4 mL/kg showed a higher percentage of anti-ulcer efficacy (50%) for inflammation, hemorrhagic bands, and ulcers, with dose-dependent activity. Under experimental conditions, *Copaiba paupera* oil demonstrated an anti-ulcer effect in rats with gastric lesions induced by acetic acid.

Keywords: Healing activity, oil, *Copaiba paupera*, albino rats.

I. Introducción

1.1. Antecedentes y fundamentación científica.

Amorin et al. (2017) evaluaron la capacidad de cicatrización de la oleorresina obtenida del árbol de *Copaifera paupera*, su mecanismo de acción e identificaron sus componentes mayoritarios; se utilizaron ratones diabéticos Swiss Webster los cuales fueron tratados tópicamente con la oleorresina (100, 150 y 200 mg/kg) por 14 días consecutivos después de que se realizó una escisión en la parte posterior de los ratones. Las citoquinas, la retracción de la herida y la evaluación histológica se realizaron a los 3, 7 y 10 días (para citoquinas); 0, 3, 7, 10 y 14 días (para la retracción de la herida); y 7 y 14 días (para evaluación histológica). Las evaluaciones histológicas demostraron que el tratamiento con dosis más altas resultó en un mejor resultado y cierre de la herida, así como también niveles más altos de deposición de colágeno e índices de reepitelización incluso en comparación con el grupo tratado con colagenasa. La composición de la oleorresina de *C. paupera* se determinó mediante análisis GC-MS, el sesquiterpeno α -copaeno fue el componente principal, representando el 22.9%, seguido por el ácido diterpeno hardwickiic (8.1%) y kaur-16-eno (6.5%). Los sesquiterpenos y diterpenos identificados de la oleorresina correspondieron a 60.2% y 25.4%, respectivamente. El tratamiento con oleorresina de *Copaifera paupera* demostró que es incluso mejor que un ungüento usado habitualmente para mejorar la cicatrización de heridas, lo que sugiere que esta oleorresina es una opción para el uso en pacientes diabéticos.

Regalado et al. (1998) estudiaron el efecto de la oleo- resina obtenida de la corteza del tallo de *Copaifera langsdorffii* sobre lesiones gástricas inducidas por etanol, indometacina, restricción de la hipotermia y estrés a ratas. La administración de la oleo resina fue por vía oral en dosis de 200 y 400 mg/kg esta investigación comprobó que la protección contra el daño gástrico causado por etanol y estrés es dependiente de la dosis recibida, y a una dosis de 400mg/kg también previno la ulceración gástrica inducida por indometacina. Además, en las ratas ligadas al píloro de 4horas, la acumulación de jugo

gástrico y la secreción de moco se potenciaron significativamente por la oleorresina, mientras que la acidez total se inhibió. Dados los resultados de la investigación se destaca el potencial gastro protector de la oleorresina de *Copaifera langsdorffii*.

Boffill et al. (2008) en su trabajo llamado “Efecto gastroprotector del fruto de la *Musa* sp ABB sobre úlceras experimentales inducidas por indometacina”. Comprobaron experimentalmente que el fruto de la *Musa* sp ABB tiene efecto gastroprotector, prepararon concentraciones acuosas de 20%, 30% y 40% de la pulpa y la cáscara previamente desecada, molida y tamizada. Las preparaciones fueron administradas 30 minutos antes de administrar indometacina y los animales fueron sacrificados 5 horas después de la inducción de la úlcera, hallaron que las preparaciones de la pulpa y la cáscara presentaron efectos gastroprotectores, la pulpa fue más efectiva, atribuyeron a esta actividad a la presencia de taninos y alcaloides.

Boffill et al. (2007) en su investigación denominada “Actividad gastroprotectora de la *Musa* sp ABB sobre úlceras inducidas por etanol”. Comprobaron experimentalmente la actividad gastroprotectora atribuida al fruto de la *Musa* sp ABB sobre úlceras inducidas por etanol en ratas Sprague Dawley machos, empleando suspensiones acuosas de la cáscara y la pulpa en concentraciones de 200mg/100g, 300mg/100g y 400mg/100g, que fueron administrado por vía oral 30 minutos antes de administrar el agente ulcerogénico; hallaron que las preparaciones de la pulpa y la cáscara del fruto presentan efecto gastroprotector lo que puede atribuirse al predominio de polifenoles y alcaloides en su composición.

Carbajal et al. (2005) investigaron al “D-002 (Abexol) sobre la úlcera duodenal inducida por cisteamina”, buscando determinar la acción protectora en la úlcera duodenal inducida por cisteamina en ratas del D-002 que es un producto natural aislado y purificado de la cera de abejas (*Apis mellifera*), que consiste en una mezcla bien definida de alcoholes alifáticos primarios. Administraron a Ratones Sprague Dawley hembras por vía oral D-002 (50 a 400 mg/Kg) y cimetidina

(200 a 400 mg/Kg) una hora previa a la inyección subcutánea de cisteamina. Los efectos inducidos por D-002 a 200 mg/Kg fueron comparables a los de la cimetidina, a la misma dosis, si bien la eficacia de la cimetidina fue superior, ya que a 400 mg/Kg se observa una mayor inhibición del desarrollo de la úlcera duodenal (76%). El mecanismo de las úlceras duodenales resulta muy dependiente de ácido, hecho por el cual, fueron necesarias dosis más elevadas de D-002 para observar dicha protección. Concluyen que la administración oral de D-002 a dosis altas (200 y 400 mg/Kg), protege la mucosa gástrica de las úlceras duodenales inducidas por cisteamina, sugiriendo un valor potencial para la terapia de estas úlceras.

Arroyo et al. (2013) en su trabajo de investigación “Efecto gastroprotector y antisecretor de un fitofármaco de hojas de matico (*Piper aduncum*)”. Determinaron el efecto gastroprotector y antisecretor del extracto etanólico de las hojas de matico (*Piper aduncum*) en modelos de animales. Para evaluar el efecto gastroprotector utilizaron 220 ratones de la cepa Balb C57, a los cuales se les indujo la formación de úlceras gástricas con indometacina 120 mg/Kg de peso, la gastroprotección se determinó a través de tres aspectos: 13 inflamación, número de bandas hemorrágicas y número de úlceras. Para evaluar el efecto antisecretor utilizaron 64 ratas machos cepa holtzmann, la antisecreción se realizó con el ensayo de ligazón pilórica, al grupo control se le administró ranitidina 100mg/Kg. Concluyen que en condiciones experimentales los extractos etanólicos, sus fracciones y su fitofármaco son gastroprotectores en ratones y antisecretores en ratas.

Castañeda et al. (2013) evaluaron el efecto antiulceroso del extracto acuoso y metanólico de las semillas de *Lupinus mutabilis* sweet (tarwo, chocho) en ratas. Evaluaron el efecto del extracto acuoso y del extracto metanólico de la semilla de *Lupinus mutabilis* sweet sobre las lesiones producidas en la mucosa gástrica inducido por indometacina administrado por vía oral en dosis de 75 mg/Kg. Utilizaron ratas machos de aproximadamente 250 g de peso. El fármaco patrón utilizado fue la ranitidina vía oral 100 mg/Kg. Las sustancias fueron administradas por vía oral, previo ayuno de 48 horas, media hora antes de la

indometacina. A las 5 horas, los animales fueron sacrificados; realizándose la laparotomía para extraer el estómago y observar las lesiones producidas. La observación se realizó por inspección macroscópica directa y microscópica confirmándose estadísticamente la existencia de propiedades antiulcerosas para el extracto acuoso al 10% en cocimiento por 10 minutos, determinaron que la acción protectora parece ser independiente de la secreción de ácido

1.2. Justificación de la investigación

Según la OMS (2005), la medicina tradicional se usa extensamente y está incrementando de manera considerable, se considera que el 80% y el 40% de la población de África y China respectivamente, utilizan la medicina tradicional con el fin de satisfacer sus necesidades sanitarias. Además, en Asia y América Latina, la población continúa el uso de la medicina tradicional como producto de creencias culturales. Entretanto el uso de la medicina complementaria y opcional (MCA) en países desarrollados se realiza de manera más habitual. El porcentaje de población que usa la MCA por lo menos una vez es de un 48% en Australia, un 70% en Canadá, un 42% en EE UU, un 38% en Bélgica y un 75% en Francia.

Peña y Paco (1990) mencionan que, en América del Sur, se conoce que precisamente 70% de la población chilena y 40% de las poblaciones colombianas consumen medicina clásica. En la situación peruana, un estudio ejecutado en un hospital de Lima de cuarto nivel descubrió que cerca de 70% de pacientes utilizó alguna medicina tradicional. Una exploración realizada en los años 1980, en barrios marginales de Lima, descubrió que 57% de los encuestados manifestaba una disposición conveniente hacia la medicina tradicional.

Lujan et al. (2014) mencionan que la medicina alternativa y complementaria (MAC) tiene algunas ventajas frente a la medicina común, como son su fácil acceso económico, bajo riesgo (si es usada adecuadamente), visión holística,

humanitaria e individualizada del paciente, y mejor efecto terapéutico y calmante en enfermedades crónicas y terminales.

La presente investigación busca promover el estudio de nuevos productos naturales que aporten principios farmacológicos para ser utilizadas como una alternativa terapéutica frente a los problemas de ulceración, además contribuirá a la existencia de una prueba científica que respalde la efectividad del aceite de *Copaifera paupera* (copaiba) proveniente de la selva peruana, disminuyendo el costo, llegando a mayor cantidad de la población.

1.3. Problema

¿El aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) al ser administrado por vía oral, tendrá efecto sobre las úlceras gástricas inducidas por ácido acético en ratas?

1.4 Marco Referencial

1.4.1. Cicatrización

1.4.1.1. Úlcera gástrica

Desde una perspectiva clínica, una úlcera es la pérdida de la superficie de la mucosa, visible por endoscopia o radiología, que, además de tener una profundidad inequívoca o visible y una extensión mayor a 5 mm en diámetro, se acompaña de un conjunto de síntomas o signos que indican su presencia. El término enfermedad ulcerosa péptica se refiere a la tendencia a desarrollar úlceras en lugares expuestos a la acción del jugo péptico (ácido y pepsina). La bacteria llamada *Helicobacter pylori* es una de las mayores causas de las úlceras pépticas. Otras causas comunes, son los medicamentos antiinflamatorios no esteroides (AINE por sus siglas). Es poco común que los tumores cancerosos o no cancerosos en el estómago, duodeno o páncreas causen úlceras. Las úlceras pépticas no son causadas por estrés ni por comer comidas picantes, pero ambas pueden empeorar los síntomas de la úlcera. Fumar y

tomar bebidas alcohólicas puede empeorar las úlceras y hasta evitar que sanen (National digestive diseases information clearinghouse, 2010).

1.4.1.2. Úlcera inducida por antiinflamatorios no esteroideos

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) son fármacos muy efectivos con efecto antiinflamatorio, antipirético y analgésico, ampliamente utilizados en el mundo sobre todo en personas mayores. Su empleo se asocia muy frecuentemente a una amplia gama de reacciones colaterales en: Hígado, riñones, piel, plaquetas, aparato cardiovascular y digestivo. El más comúnmente afectado es este último, en particular estómago y duodeno. Los AINE inhiben la actividad de la ciclooxigenasa 1 (cox-1) presente en diversos tejidos y que media las reacciones fisiológicas, y la ciclooxigenasa 2 (cox-2) presente en el tejido lesionado. La inhibición de cox-2 media los efectos no deseados de la inflamación, pero la simultánea inhibición de cox-1 ocasiona efectos colaterales que son consecuencia de la disminución en la síntesis de prostaglandinas, prostaciclina y tromboxanos (Ofmara, 2007).

Las propiedades fisicoquímicas y el mecanismo de acción de estos fármacos, están directamente implicados en la patogenia de las lesiones gastrointestinales, es decir, el efecto tóxico de los AINES es doble, por una parte tienen un efecto tóxico local dependiente de las propiedades fisicoquímicas del fármaco, y por otra tienen un efecto tóxico sistémico tras la absorción y activación hepática del fármaco, mediado este por el mecanismo de acción farmacológico que es la inhibición de la síntesis de prostaglandinas. Las prostaglandinas tienen un efecto citoprotector de la mucosa gástrica, ya que aumentan la secreción de mocos, la secreción de bicarbonato, el flujo sanguíneo y la restauración epitelial; por lo tanto su inhibición altera los mecanismos de protección y permite que los

ácidos biliares, la pepsina y el ácido clorhídrico ataquen la mucosa (Regalado et al., 2012)

1.4.1.3. Úlcera inducida por *Helicobacter pylori*

La colonización de la mucosa gástrica por *Helicobacter pylori* origina la infección bacteriana más frecuente en el mundo, que es la principal causa de enfermedades gastrointestinales en humanos. *Helicobacter pylori* es una bacteria gram negativa de forma espiral, que se encuentra en la capa mucosa o adherida al epitelio de la mucosa gástrica. Los estudios serológicos retrospectivos y prospectivos han demostrado que la incidencia de *Helicobacter pylori* aumenta con la edad. En los países industrializados se detecta poco en individuos menores de 20 años de edad, mientras que en las naciones en vías de desarrollo la incidencia en niños de diez años es superior a 50%, situación que se correlaciona con la incidencia del microorganismo infectante y malas condiciones sanitarias. La incidencia alcanza valores de 40%; sin embargo, a pesar de que no existan síntomas menos de 5% de esas personas tienen histología normal. *Helicobacter pylori* causa más de 90% de las úlceras duodenales y más de 80% de las úlceras gástricas (Avendaño et al., 2011).

La bacteria causa las úlceras pépticas al dañar el revestimiento mucoso que protege el estómago y el duodeno, causando que ácidos estomacales atraviesen el sensible revestimiento debajo del estómago y duodeno. Juntos, el ácido estomacal y *Helicobacter pylori* irritan el revestimiento del estómago, duodeno y causa úlcera. Sin embargo, la mayoría de personas con *Helicobacter pylori* no desarrollan úlceras. Es probable, que el desarrollo de la úlcera dependa de las características de la persona infectada; del tipo de cepa de *Helicobacter pylori* presente. No está determinado la manera en que se propaga *Helicobacter pylori*, pero se cree que puede ser

transmitido por medio de alimentos o agua contaminados. Las personas pueden contraer la bacteria a través de alimentos que no se lavaron o prepararon adecuadamente, o al beber agua que proviene de un lugar contaminado o sucio. Otros estudios están investigando cómo se propaga la infección de una persona infectada a una persona no infectada (National digestive diseases information clearinghouse, 2010).

1.4.1.4. Signos y síntomas de la úlcera péptica

Los pacientes de úlcera péptica presentan usualmente dolor epigástrico, que los despierta en la madrugada y se atenúa con la ingesta de comidas, sin embargo, no son los únicos síntomas a considerar. Más del 90% de los pacientes con úlcera péptica presentan dolor epigástrico ardoroso asociando náuseas, vómitos, tos, meteorismo y en ocasiones pérdida de peso. Este dolor es usualmente localizado, no irradiado, dando inicio cuando el estómago se encuentra vacío, 2 a 5 horas después de la ingesta de comida. El dolor se alivia con la ingesta de comida o con el uso de antiácidos. El 66% de los pacientes con úlcera duodenal y el 33% de aquellos con úlcera gástrica suelen despertarse entre 12 y 3 am refiriendo dolor epigástrico. Un 46% de los pacientes presenta síntomas de reflujo gastroesofágico como: Pirosis, dolor torácico, disfagia y reflujo. Pacientes con edad avanzada tienen menor probabilidad de presentar síntomas, pero aumentan el riesgo de complicaciones como: Perforación, hemorragia y obstrucción. La sintomatología más común en pacientes mayor a 80 años es la siguiente: Dolor epigástrico (74%), náuseas (24%) y vómitos (20%) (Najm, 2011; Napolitano, 2009).

1.4.1.5. Pruebas diagnósticas de úlceras (Sebastián, 2003).

El diagnóstico de úlcera gastroduodenal que suele emplearse es la endoscopia oral. Permite visualizar el nicho ulceroso y valorar sus

características morfológicas, localización, estado evolutivo y, además permite la toma de muestras para valorar la infección por *Helicobacter pylori* y la histología de la lesión. La infección de la mucosa gástrica por *Helicobacter pylori* puede diagnosticarse mediante métodos invasivos, que precisan de la realización de endoscopia, y no invasivos

1.4.1.5.1. Métodos invasivos

a) Histología (biopsia de mucosa gástrica)

Permite identificar *Helicobacter pylori* por su morfología y características microscópicas. Las muestras obtenidas mediante endoscopia, preferiblemente de antro y cuerpo gástricos, se tiñen con hematoxilina-eosina. Este método tiene una sensibilidad del 80-90% y una especificidad del 80%.

b) Prueba de la ureasa en biopsia gástrica

La ureasa del *Helicobacter pylori* desdobra la urea del medio gástrico en amoníaco y CO₂, aumentando con ello el pH. Al introducir una muestra de biopsia gástrica en un contenedor con urea, si esta muestra contiene *Helicobacter pylori* con actividad sobre la ureasa, se producirá una alcalinización del medio y un viraje del color de la solución (de color ámbar a fucsia). En estos momentos se dispone de un test de ureasa rápida que permite diagnosticar la infección por *Helicobacter pylori* en unos pocos minutos. Este método tiene una especificidad del 90% y una sensibilidad del 90- 95%.

c) Cultivo microbiológico

El cultivo de muestras de biopsia gástrica suele reservarse para casos de fracaso del tratamiento erradicador habitual. El

antibiograma correspondiente permite confirmar la sensibilidad antimicrobiana en caso de resistencias o alergias a los antibióticos utilizados convencionalmente.

4.1.4.2. Métodos no invasivos

a) Test del aliento

Este método utiliza urea marcada con ^{13}C (inocuo), que es ingerida en una solución por el paciente. Si hay actividad ureasa en el estómago (paciente infectado), se produce liberación de CO_2 (marcado), que se elimina por el aire espirado. La muestra de aire es procesada por un espectrómetro de masas y su lectura permite confirmar o descartar la existencia de *Helicobacter pylori*. Es una prueba sencilla y de fácil cumplimiento. Es muy útil para el diagnóstico de infección por *Helicobacter pylori* y, sobre todo, para confirmar la erradicación tras el tratamiento (se realiza al menos cuatro semanas después de haberlo finalizado). La sensibilidad y especificidad del método son superiores al 95% (Arroyo, 1998).

b) Serología

Se basa en la detección de anticuerpos, de clase IgG e IgA, producidos en respuesta a la infección por *Helicobacter pylori*. Existen dos tipos de pruebas serológicas: Las ultrarrápidas y las basadas en la técnica ELISA (enzimoinmunoensayo). Las primeras, detectan títulos de IgG específico frente a *Helicobacter pylori*. Tienen buena sensibilidad, pero su especificidad es moderada. Las segundas cuantifican el título de IgG y su evolución durante el tiempo. Tienen una sensibilidad y especificidad mayores que la anterior (90-95%) (Llano et al., 2013).

1.4.2. Fármacos antiulcerosos

a) Inhibidores de la bomba de protones

Los IBP, son profármacos que bloquean de manera irreversible al enzima ATPasa dependiente de K^+-H^+ . Esta enzima denominada bomba de protones, interviene en la formación de HCl que solo actúa cuando se produce un estímulo de la secreción ácida. Los IBP se activan mediante la formación de un compuesto sulfonado y a continuación se unen a un residuo de cisteína de la bomba de protones mediante un enlace covalente. De esta manera se bloquea la ATPasa de forma permanente y como consecuencia también se bloquea la vía final común de la secreción de HCl. Producen supresión de la secreción ácida gástrica durante largos periodos de tiempo, especialmente la secreción nocturna. Existen pocas diferencias en el efecto antisecretor y éstas son generalmente de tipo farmacocinético. El efecto es dependiente de la dosis y desde las primeras horas la secreción disminuye entre el 50-80% (Katz, 2005).

b) Antihistamínicos H₂

Los receptores H₂ se encuentran fundamentalmente en las células parietales de la mucosa gástrica. Los antagonistas bloquean el efecto de la histamina endógena sobre los receptores H₂, impidiendo que se forme AMP cíclico. Este es el mensajero intracelular que inicia la secuencia de reacciones bioquímicas que producen la liberación de H^+ y la consiguiente formación de HCl. Actúan sobre los tres mecanismos de producción de HCl. Inhiben la secreción ácida estimulada por histamina, gastrina y reducen la secreción estimulada por acetilcolina, disminuyendo tanto el volumen del jugo gástrico como su concentración en H^+ .

También disminuyen la secreción de pepsina y potencian los aumentos postprandiales de gastrina. Su eficacia es mayor cuando se administran por la noche debido a que inhiben de manera predominante la secreción basal de HCl (Alsasua, 2012).

c) Antiácidos

Los antiácidos neutralizan la acidez gástrica y proporcionan un alivio rápido del dolor. En ayunas su efecto dura solo 30 minutos, en cambio, si se toma una hora después de la comida, el antiácido neutralizará la acidez gástrica durante ocho horas. Se dividen en 2 tipos:

- Antiácido absorbibles o sistémicos: El citrato sódico y el bicarbonato sódico. El prototipo es el Bicarbonato sódico. Produce un efecto rápido. Se absorbe en el intestino, pudiendo producir alcalosis metabólica, que va a ser compensada mediante su eliminación renal. Puede producir retención de líquidos por sobrecarga de sodio, por lo que está contraindicado en pacientes con insuficiencia cardíaca, hipertensión arterial o edemas. La formación de CO₂ produce gases, con la consiguiente distensión gástrica.
- Antiácidos no absorbibles: Hidróxido de calcio e hidróxido de aluminio. El Hidróxido de aluminio, es el más utilizado de los derivados del aluminio. La velocidad de reacción es lenta y poco potente. Posee propiedades astringentes debido a que el ión aluminio reacciona con las proteínas de la mucosa intestinal formando complejos. La constipación se previene asociando el hidróxido de aluminio con hidróxido de magnesio. Puede producir hipercalcemias en cuyo caso,

existe la posibilidad de formación de cálculos en las vías urinarias. Interfiere con la absorción de otros fármacos si se administran conjuntamente como Beta-bloqueantes, etambutol, isoniazida, quinolonas, antagonistas H2 y tetraciclinas

d) Protectores de la Mucosa (Alsasua, 2012).

- Sucralfato: Favorece la liberación de prostaglandinas estimulando el recambio celular y la secreción de moco y bicarbonato. Posee efecto citoprotector de la mucosa gástrica protegiéndola de los efectos de pepsina, HCl y sales biliares. Se adhiere selectivamente a la úlcera formando una pasta alrededor, y actúa adsorbiendo pepsina y sales biliares. Se asocia con otros antiulcerosos y antimicrobianos en la erradicación del *Helicobacter pylori*. Aunque se absorbe escasamente, se debe utilizar con precaución en pacientes con insuficiencia renal. No debe emplearse durante el embarazo ni la lactancia.
- Sales de bismuto: El bismuto coloidal inactiva a la pepsina in vivo. Se combina con las proteínas del borde ulceroso, protegiéndolo de la acción enzimática y estimulando la producción de moco. Se utiliza por vía oral y con el estómago vacío. No se debe tomar con leche. Se emplea en el tratamiento de gastritis crónicas y úlceras gastroduodenales a dosis de 240 mg/12h /28 días.
- Misoprostol: Análogo semisintético de la PGE1 que inhibe la secreción de ácido clorhídrico y enzimas proteolíticas e incrementa la secreción de bicarbonato y mucina. Se usa fundamentalmente en la prevención de la ulceración gástrica en pacientes que toman AINE a la

dos de 200 microgramos 2-4 veces al día. Puede causar diarrea severa, que obliga a interrumpir el tratamiento, y además vómitos, dolor abdominal, sangrado vaginal. No debe usarse durante el embarazo porque incrementa la motilidad uterina.

- **Dosmalfato:** Es un derivado flavonoide, que actúa sobre la mucosa gastroduodenal y carece de efectos antiseoretos. Se une a la mucosa formando una película, disminuyendo la actividad de la pepsina sin modificar su volumen y neutralizando parcialmente el pH gástrico. Estimula las defensas naturales de la mucosa gastroduodenal a través del aumento de la PGE2. Con ello se estimulan de manera indirecta los mecanismos defensivos dependientes de las prostaglandinas, que, entre otros, incluyen el aumento de la secreción de moco, los fosfolípidos de membrana, el bicarbonato, la renovación celular y el flujo sanguíneo. Controla rápida y eficazmente la sintomatología derivada de las lesiones en la mucosa inducidas por AINE. Presenta un número escaso de efectos secundarios.

1.4.3. Copaiba (Leandro, 2015).

El nombre “Copaiba” es la denominación que comúnmente se utiliza para todo el género de copaífera, éste tiene un origen indígena: “Cupa-yba” que significa “árbol de depósito”, esto debido a las virtudes medicinales que los nativos le atribuyeron.

El árbol tiene un tronco de aspecto oscuro y áspero al tacto. Sus hojas son pecioladas y alternas. Además, sus flores son hermafroditas y dan un fruto que contienen una sola semilla, la cual tiene forma ovalada, de

cubierta dura y color oscuro casi negro. Cada 5 años ocurre la fructificación del Copaiba.

Una de las partes más aprovechables del árbol de copaiba es la madera. Ya que resistente al ataque de hongos y fácil de trabajar entre sus principales usos se encuentran: producción de parquet, muebles, canoas, entre otros. La oleorresina de copaiba, la cual erróneamente se denomina como aceite de copaiba, es un exudado compuesto de ácidos resinosos y compuestos volátiles. Es extraída del tronco del árbol, es aromática y fluida que al contacto con el aire se espesa; además presenta una diversa gama de colores la cual varía según especie y esta va desde un transparente, amarillo a marrón claro.

La descripción taxonómica de copaiba según Cronquist (1988):

REINO: Plantae

DIVISIÓN: Magnoliophyta

CLASE: Equisetopsida

SUBCLASE: Magnoliidae

ORDEN: Fabales

FAMILIA: Fabaceae Lindl.

GÉNERO: *Copaifera* L.

ESPECIE: *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer

Nombre común: “Copaiba”, “Copaifera”.

Los constituyentes principales del látex de copaiba son los diterpenos y sesquiterpenos, de los cuales su composición varía dependiendo de las especies, al menos 38 sesquiterpenos han sido identificados: de estos 35 fueron hallados en las oleorresinas de *C. duckei*, *C. paupera*, *C. piresii*, *C. pubiflora*, *C. reticulada*: ciclozativeno, 7 – episesquithujene, cyperene, cis Bfarneseno, guaia-6,9-dien, epi-B-santalene(E)—farneseno, sesquisabinene, 4,5-diepiaristolochene,

germacreno A,trans-cadina-1,4- dieno, Bchamigrene, cis-B-guaiene; viridiflorene, γ -gurjuneno, γ -curcumeno, epicubebol, valenceno, trans-B-guaiene, (E,E)- α -farneseno, (Z)- α -bisaboleno, α -bulnesene, B-curcumeno, (Z)- γ -bisaboleno, 7-epi- α -selineno, transcadina-1,4-dieno, (E)- γ -bisaboleno, globolol, humeleno epóxido, epicubenol, cubenol, epi- α -muurolol y la epi-B-bisabolol. Los sesquiterpenos principales que se encuentran en las oleorresinas de copaiba son: β -cariofileno, óxido de cariofileno, α -humuleno, δ -cadineno, α -cadinol, α -cubebene, α - y β -selinene, β -elemene, α -copaene, trans- α , bergamotene y β -bisabolene, el ácido kaurénico se encuentra presente en la oleorresina del árbol de copaiba. Según un estudio realizado por Van Vuuren SF30, el compuesto diterpenoide que contiene la oleorresina del árbol de copaiba: el ácido kaurénico tiene actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Bacillus subtilis* (Machaca, 2015).

El árbol de la especie *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer, mide aproximadamente entre 30 a 35 metros de alto, oriundo de la selva baja, con un olor pronunciado. Sus hojas son compuestas pinnadas de foliolos alternos, glabras, subcordadas y pequeñas, de un color verde negruzcas al secar; con nerviaciones reticuladas, intrincadas en el haz y el envés, con estípulas pequeñas y caducas. Sus flores son blancas, pequeñas, sésiles, fragancias, con espigas no ramosas en ramas laterales; sépalos cuatro, unidos en la base, imbricados, sin pétalos; androceo de diez estambres libres con anteras versátiles; ovario hirsuto, brevemente estípitado, el estilo filiforme encorvado con estigma truncado o capitado. Fruto en vainas glabras subsésiles, pequeñas, usualmente con una sola semilla oscura con arilo amarillo naranja (Machaca, 2015).

1.5. Hipótesis

El aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) al ser administrado por vía oral tiene efecto protector sobre las úlceras gástricas inducidas por ácido acético en ratas.

1.6. Objetivos

Objetivo general:

Determinar el efecto del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) sobre úlceras gástricas inducidas por ácido acético en ratas.

Objetivos específicos:

- Realizar el estudio fitoquímico preliminar del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba).
- Evaluar el efecto antiulceroso gástrico del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) en ratas.

II. METODOLOGÍA

2.1 Tipo y diseño de investigación

2.1.1 Tipo

El diseño del estudio fue de tipo analítico-experimental, aleatorizado, completo, pre-clínico *in vivo*.

2.1.2 Diseño

La presente investigación buscó determinar el efecto antiulceroso gástrico del aceite *Copaifera paupera* (Copaiba), en ratas, teniendo en cuenta el siguiente diseño experimental:

Grupos	tratamientos
Grupo I	Ácido acético + suero fisiológico 4 mL/kg
Grupo II	Ácido acético + Omeprazol 40 mg/Kg
Grupo III	Ácido acético + copaiba 0.1 mL
Grupo IV	Ácido acético + copaiba 0.2 mL
Grupo V	Ácido acético + copaiba 0.4 mL

2.2 Población y muestra

2.2.1 Población:

- Población₁: Ratas albinas
- Población₂: *Copaifera paupera* (Copaiba)

2.2.2 Muestra:

- Muestra₁: Ratas albinas Cepa Holtzman: 20 unidades
- Muestra₂: Aceite de *Copaifera pauoera* (Copaiba): 100 mL.

2.3. Técnicas e instrumentos de investigación:

2.3.1. Obtención de la muestra vegetal:

La muestra vegetal (aceite de copaiba) fue obtenida del mercado de la chacra a la olla, ubicado en el distrito de Chimbote, Provincia de Santa, Departamento de Ancash, y su procedencia fue del distrito de Tingo María.

2.3.2. Estudio fitoquímico preliminar del aceite de *Copaiba paupera* (Copaiba).

El estudio fitoquímico del aceite de copaiba se realizó en el laboratorio de farmacología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad San Pedro, al cual se le practicó, las reacciones de Dragendorff y Mayer (alcaloides), Shinoda (flavonoides), cloruro férrico (compuestos fenólicos), gelatina (taninos), ninhidrina (aminoácidos), Burtranger (quinonas) y ácido sulfúrico alfa naftol (glicósidos) (Lock de Ugaz, 2017).

2.3.2.1. Fundamento: permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en una planta, consiste en la extracción de la planta con solventes apropiados y la aplicación de reacción de color y precipitación.

2.3.2.2.Procedimiento:

a) Identificación de Alcaloides

Ensayo de Dragendorff

Se colocó 1 ml del extracto en un tubo de ensayo, luego se añadió 3 gotas del reactivo de Dragendorff, y se procedió a observar considerándose positivo la formación de un precipitado rojo ladrillo.

Ensayo de Mayer

Se colocó 1 ml del extracto en un tubo de ensayo, a continuación, se añadió 3 gotas del Reactivo de Mayer y se procedió a observar considerándose positivo la formación de un precipitado blanco.

Ensayo de Wagner

Se colocó 1 ml del extracto en un tubo de ensayo, a continuación, se añadió 3 gotas del Reactivo de Wagner y se procedió a observar considerándose positivo la formación de un precipitado café.

b) Identificación de Flavonoides

Ensayo de Shinoda

Se colocó 1 ml del extracto en un tubo de ensayo, luego se agregó limadura de magnesio seguido de 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado y se procedió a observar considerándose positivo si la reacción es de rojo oscuro intenso.

c) Identificación de compuestos fenólicos y/o taninos

Ensayo de Cloruro Férrico (FeCl_3)

Se colocó 1 ml del extracto en un tubo de ensayo, a continuación, se agregó 3 gotas del reactivo FeCl_3 al 10%

y se procedió a observar considerándose positivo la aparición de coloración verde oscuro.

d) Identificación de triterpenoides y/o esteroides

Ensayo de Liebermann-Burchard

Se colocó 1 ml del extracto en un tubo de ensayo, a continuación se agregó 5 gotas de ácido acético seguido de 5 gotas de anhídrido acético, luego se agregó 1 gota de ácido sulfúrico y se procedió a observar considerándose positivo para triterpenoides una coloración rojo-marrón y para esteroides la presencia de anillo color verde.

e) Identificación de Quinonas

Ensayo de Borntrager

Se colocó 1 ml del extracto en un tubo de ensayo, a continuación, se agregó 5 gotas del reactivo de Borntrager y se procedió a observar considerándose positivo si la reacción es de color rojo intenso o rosado oscuro.

f) Identificación de Azúcares reductores

Se colocó 1 ml del extracto en un tubo de ensayo, primero se mezcló Fehling A + Fehling B y luego se añadió a la muestra. Considerándose positivo un precipitado rojo.

g) Identificación de Saponinas

Se colocó 1 ml extracto en un tubo de ensayo y se diluyó con 5 veces su volumen en agua y se agitó la mezcla fuertemente durante 2 minutos. Considerándose positivo la aparición de espuma de 2mm de altura en la superficie y si persistió por más de 2 minutos.

2.3.3. Determinación del efecto del aceite de *Copaifera paupera* (copaiba) sobre las úlceras gástricas inducidas por ácido acético en ratas (Souccar y Lapa 2002).

Para determinar el efecto analgésico, se utilizaron 3° ratas albinas cepa Holtzman 180 ± 20 g de peso corporal. Las cuales procedieron del bioterio del Instituto Nacional de Salud (Lima-Chorrillos), las cuales fueron aclimatadas 7 días antes de la experimentación y fueron alojados en jaulas metálicas con alimento balanceado en pellets (ratonina) y agua a libertad a temperaturas 25 ± 1 °C, con 12 horas ciclo luz / oscuridad y humedad relativa aproximadamente 60%, luego se distribuyeron de manera aleatoria en cinco grupos de cuatro ratas cada grupo.

Todos los animales fueron depilados en la zona abdominal 24h antes y se les aplicó una laparotomía para ligar el píloro y administrarle en la zona submucosa gástrica 0.5 ml de ácido acético al 10%, posterior a las seis horas se les retiró la ligazón pilórica y se administró por vía oral los siguientes tratamientos: Grupo 1° SSF 4 ml/Kg, grupo 2° omeprazol 40 mg/Kg y el 3°, 4° y 5° grupo recibirán 0.1, 0,2 y 0.4 ml de aceite de copaiba una vez al día y durante 1 semana, finalmente se sacrificaron por sobredosis de anestesia, para la cual se utilizará 100 mg/kg de pentobarbital sódico por vía intraperitoneal, los estómagos fueron retirados y se evaluaron los parámetros inflamación, bandas hemorrágicas y úlceras gástricas. Para tal fin se consideró la escala leve (+), moderado (++), severo (+++).

2.4 Procesamiento y análisis de la información

Los datos fueron expresaron como valor medio $\pm$ error estándar de la media (EE), límite superior e inferior, análisis de varianza ANOVA, los valores fueron estadísticamente significativos con el valor $p < 0,05$. Utilizándose el Programa estadístico SPSS, versión libre para Windows.

III. RESULTADOS

Tabla 1. Marcha fitoquímica del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba).

Reacción de Identificación	Metabolito Secundario	Cantidad
Gelatina	Taninos	+
Tricloruro férrico	Compuestos Fenólicos	+++
Mayer	Alcaloides	++
Hidróxido de sodio	Quinonas	+
Liebermann	Esteroides y triterpenos	++
Shinoda	Flavonoides	+++

Leyenda: (+++) = *Abundante cantidad*; (++)=*Regular cantidad o positivo*,
(+)= *Poca cantidad o trazas*; (-)=*Ausencia*.

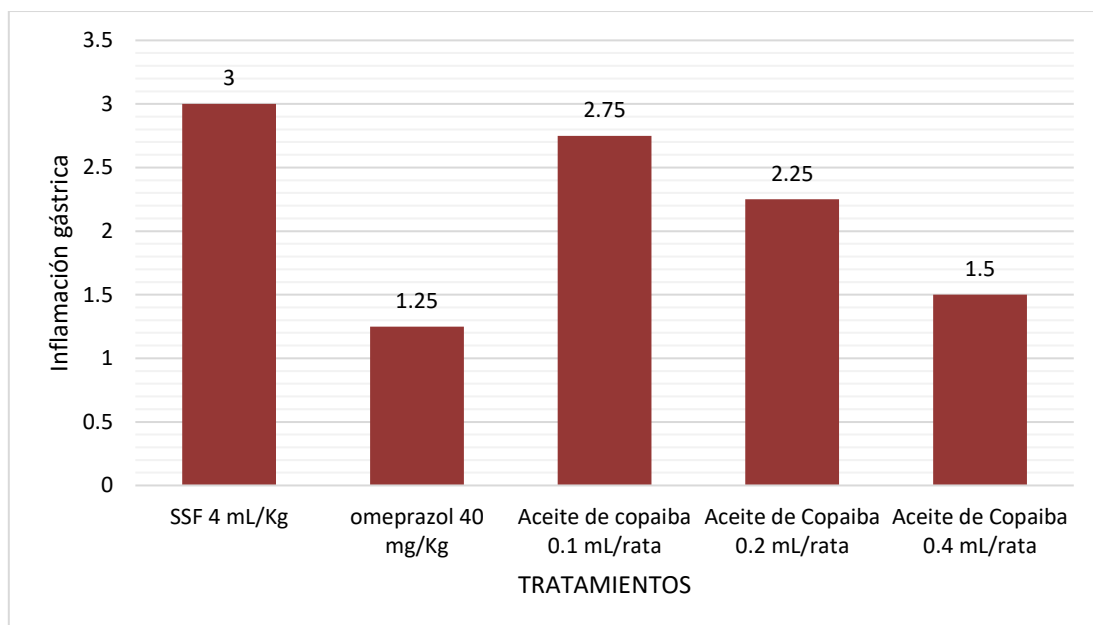


Figura 1. Número promedio de inflamación evaluar el efecto antiulceroso gástrico del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) en ratas.

Fuente: elaboración propia

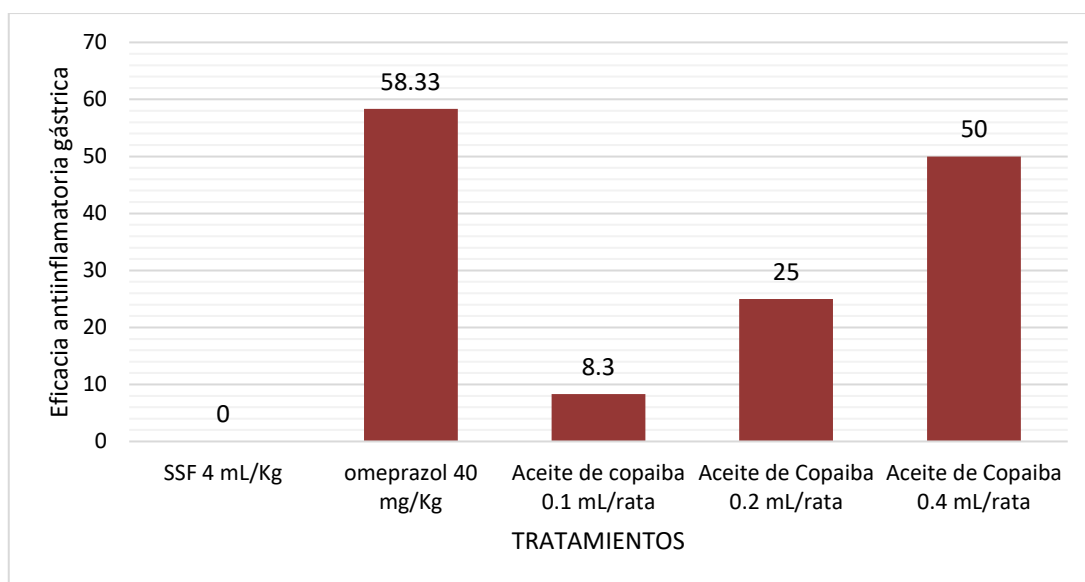


Figura 2. Porcentaje de eficacia antiinflamatoria al evaluar el efecto antiulceroso gástrico del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) en ratas.

Fuente: elaboración propia

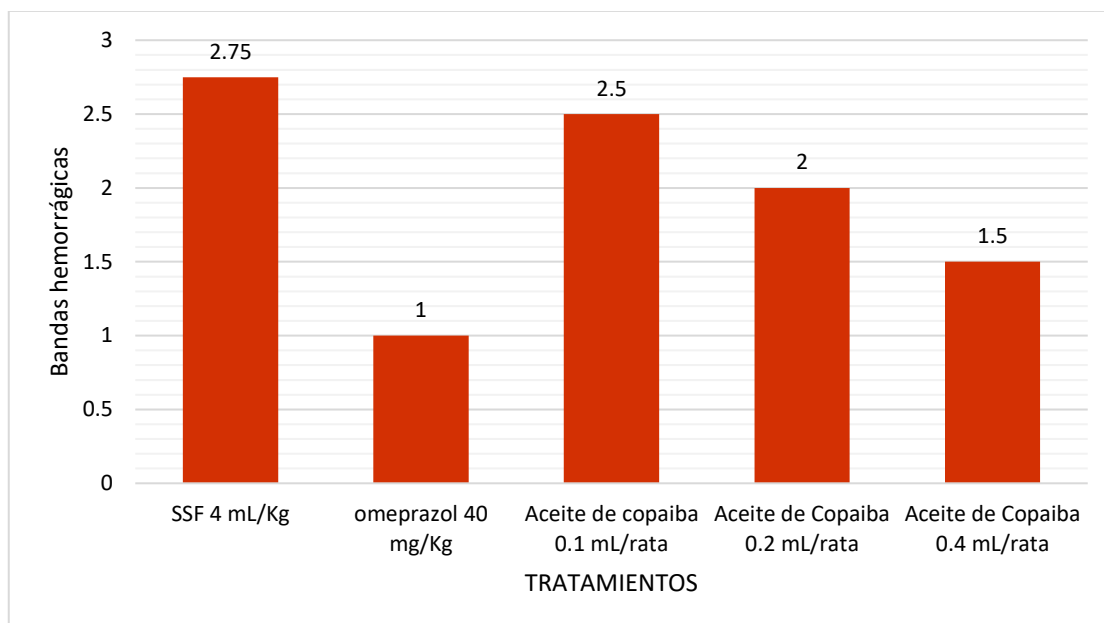


Figura 3. Número promedio de bandas hemorrágicas al evaluar el efecto antiulceroso gástrico del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) en ratas.

Fuente: elaboración propia

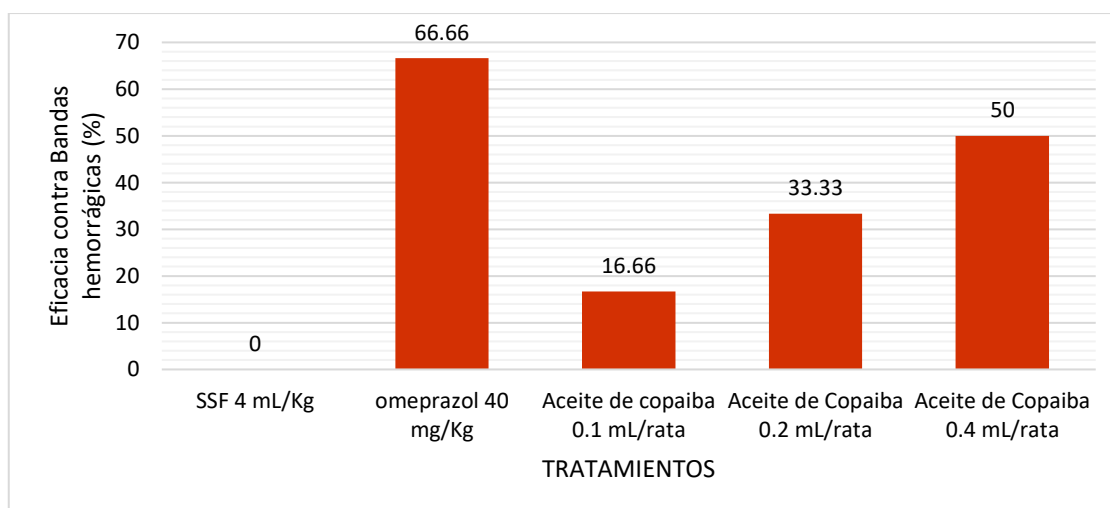


Figura 4. Porcentaje de eficacia contra las bandas hemorrágicas al evaluar el efecto antiulceroso gástrico del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) en ratas.

Fuente: elaboración propia

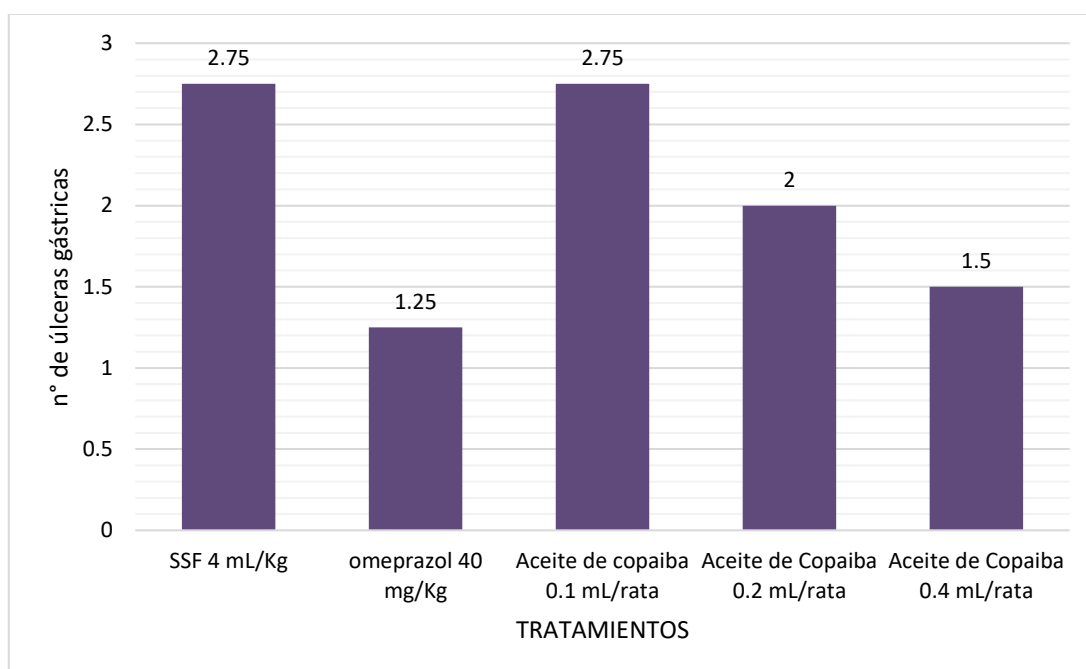


Figura 5. Número promedio de úlceras al evaluar el efecto antiulceroso gástrico del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) en ratas.

Fuente: elaboración propia

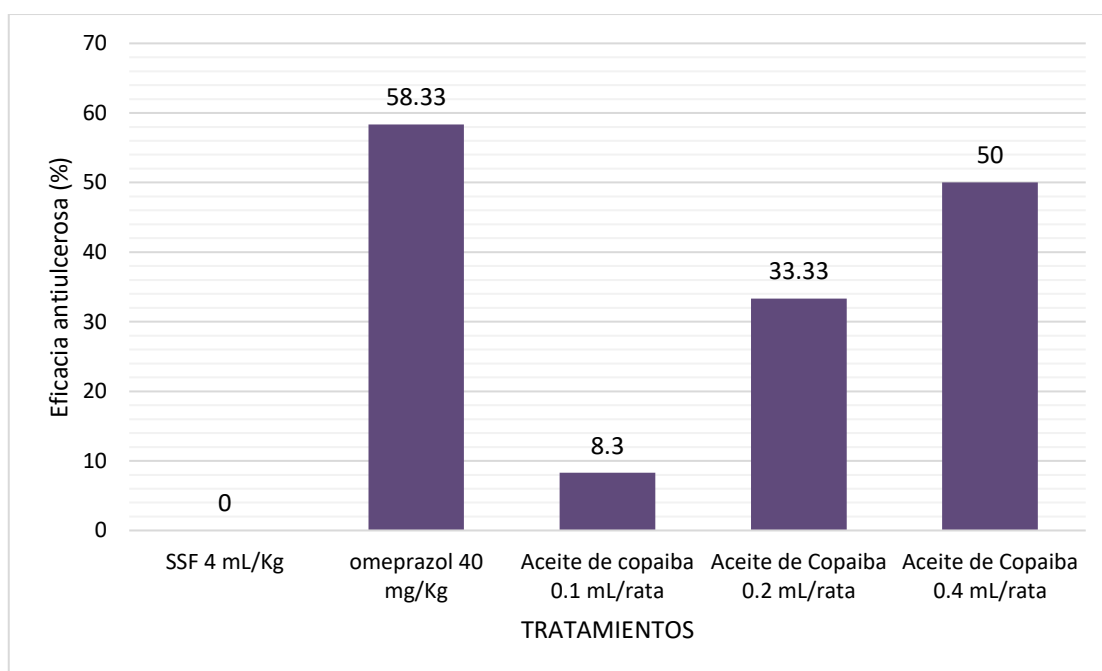


Figura 6. Porcentaje de actividad antiulcerosa al evaluar el efecto antiulceroso gástrico del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) en ratas.

Fuente: elaboración propia

IV. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

El estudio fitoquímico del aceite de *Copaiba paupera* (copaiba) ha evidenciado la presencia de flavonoides y compuestos fenólicos en abundante cantidad (+++), alcaloides y esteroides triterpénicos en regular cantidad (++) y taninos y quinonas en poca cantidad (+) (Tabla 1); lo que se confirma con el estudio de Arroyo y col (2015).

Los parámetros evaluados utilizaron una escala de leve (+), moderado (++) y severo (+++), o su equivalente 1 para leve, 2 para moderado y 3 para severo. En las figuras 1 y 2, se evidencia una puntuación de inflamación gástrica de 1,5 con aceite a 0,4 mL/rata equivalente a un porcentaje de eficacia antiinflamatoria del 50%, con valores muy cercanos a los reportados con omeprazol 40 mg/Kg con una puntuación de 1,25 y un porcentaje de actividad antiinflamatoria de 58,33%. Así mismo en las figuras 3 y 4 se evidencia una puntuación de bandas hemorrágicas de 1,5 con aceite a 0,4 mL/rata equivalente a un porcentaje de eficacia antiinflamatoria del 50%, con valores muy cercanos a los reportados con omeprazol 40 mg/Kg con una puntuación de 1 y un porcentaje de actividad antiinflamatoria de 66,66%. También se evaluó el número de úlceras gástricas con una puntuación de 1,5 con aceite a 0,4 mL/rata equivalente a un porcentaje de eficacia antiinflamatoria del 50%, y valores cercanos a los reportados con omeprazol 40 mg/Kg con una puntuación de 1,25 y un porcentaje de eficacia antiulcerosa de 58,33%

Ramírez (2010), al estudiar el efecto gastroprotector del extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* en ratas albinas inducida por etanol de 96°, observó la presencia de flavonoides, compuestos fenólicos, alcaloides y taninos en abundante cantidad en el extracto etanólico, además de encontrar su efecto gastroprotector. Estos metabolitos también fueron evidenciados en nuestro estudio, lo que también le otorgaría efecto gastroprotector.

Por otro lado, Inocente (2017), en su estudio efecto gastroprotector del extracto hidroalcohólico de hojas de *Mutisia acuminata*, inducida por naproxeno sódico de 500 mg, identificó los metabolitos secundarios: alcaloides, flavonoides,

compuestos fenólicos, taninos, azúcares reductores y esteroides, del cual se encontró en mayor cantidad a los flavonoides, compuestos fenólicos y taninos, donde los taninos encontrados podría ser el principal responsable de la actividad gastroprotectora.

Arroyo y Bonilla (2013), en su estudio denominado efecto antiulceroso y toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico al 70 % de la corteza de *triumfetta bogotensis*, inducida por indometacina, encontró la presencia de taninos, flavonoides y glicósidos en abundancia. Además, en recientes investigaciones indicaron que los compuestos flavonoides 2"- O-ramnosil 4"-O-metil vitexina, poseen actividad gastroprotectora, actúa reduciendo el índice de ulceración y la intensidad de la ulceración de la ulcera gástrica (Ayuso, 1999).

En nuestro estudio encontramos dentro de los metabolitos secundarios la presencia de flavonoides, teniendo en cuenta lo mencionado anteriormente, se podría considerar que los flavonoides del extracto de *Mutisia acuminata* podrían ser uno de los metabolitos secundarios responsable de su acción gastroprotectora.

V. CONCLUSIONES

Se realizó la marcha fitoquímica del aceite de *Copaiba paupera* (Copaiba), logrando identificar la presencia de flavonoides y compuestos fenólicos en abundante cantidad (+++), alcaloides y esteroides triterpénicos en regular cantidad (++) y taninos y quinonas en poca cantidad (+).

Se evidenció que el aceite de *Copaiba paupera* en volumen de 0,4 mL/Kg presentó mayor porcentaje de eficacia antiulcerosa de 50% tanto para inflamación, bandas hemorrágicas y úlcera, con actividad dosis dependiente.

Se demostró que en condiciones experimentales el aceite *Copaiba paupera* (Copaiba) presenta efecto antiulceroso en ratas con inducción de lesiones gástricas por ácido acético.

VI. RECOMENDACIONES

Realizar estudios fitoquímicos del aceite obtenidos de diferentes lugares geográficos, para evaluar la presencia de sus metabolitos secundarios y ermita asociarle a una posible actividad farmacológica.

Realizar estudios anatomopatológicos de las lesiones gástricas para determinar mejor efecto antiulceroso.

Comparar el efecto antiulceroso con otras especies vegetales, así como con otros estándares farmacológicos de eficacia comprobada.

Evaluar el efecto antiulceroso, utilizando otros modelos de experimentación animal.

VII. AGRADECIMIENTO

A Dios, brindarnos la fortaleza para poder seguir adelante y estar siempre en esos momentos de incertidumbre.

A nuestros padres por ser apoyo fundamental en nuestras vidas y ejemplo de lucha y dedicación.

A mis familiares, amigos y docentes por sus enseñanzas y consejos que permitieron lograr este anhelado deseo.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alsasua, A. (2012). Fármacos antiulcerosos. *Actualidad en farmacología y terapéutica*, 10(3), 180 – 193
- Amorim, J.L., Barros, J., Fernandes, A.C., Oliveira, E.G., Palmero, C., M., Palantinos, M.A., de Souza, A., Pinto, J.F., de Andrade, J.R., Benjamim, C.F., Basso, S.L., Nasciutti, L.E., & Dias, P. (2017). Wound healing properties of *Copaifera paupera* in diabetic mice.
- Arroyo, J., & Bonilla, P. (2013). Efecto Gastroprotector y antisecretor de un fitofármaco de hojas de matico (*Piper aduncum*). *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 30(4), 608- 615
- Arroyo, J., Bonilla, P., Moreno, E., Ronceros, G., Tomás, G., Huamán, J., et al. (2013). Efecto gastroprotector y antisecretor de un fitofármaco de hojas de matico (*Piper aduncum*). *Rev Perú Med Exp Salud Pública*, 30(4), 608 – 615
- Ayuso, J. (1999). Flavonoides. In Villar Del Fresno A. M, editor. *Farmacognosia General*. España: Síntesis.
- Boffill, C., Marcel, R., Monteagudo, J., & Sánchez, A. (2008). Efecto gastroprotector del fruto de la *Musa* sp ABB sobre úlceras experimentales inducidas por indometacina. *Medicentro. Villa Clara Cuba*. 12(1), 28.
- Boffill, C., Marcel, R., Monteagudo, J., Sánchez, A., Díaz, C., & Iglesias, R. (2007). Actividad gastroprotectora de la *Musa* sp ABB sobre úlceras inducidas por etanol. *Medicentro. Villa Clara Cuba*. 11(1)
- Castañeda, C., Manrique, M., Ibáñez, V., Gamarra C., & Galán, L. (2003). *Evaluación del efecto antiulceroso del extracto acuoso y metanólico de las semillas de lupinus mutabilis sweet (tarwo, chocho) en ratas*. Facultad de Medicina, Universidad San Martín de Porres. Lima, Perú.
- Carbajal, D., Molina, V., Arruzazabala, L., & Más, R. (2005). D-002 (Abexol) sobre la úlcera duodenal inducida por cisteamina. *Revista CENIC Ciencias Biologicas. Habana*. 36(3), 167 – 169

- Cronquist, A. (1988). The evolution and classification of flowering plants. New York: The New York Botanical Garden, 555.
- CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Proyecto X-I. (1995). Búsqueda de principios bioactivos de plantas de la región. Manual de técnicas de investigación; 220. Discovery de salud. Intentan impedir el uso curativo de los productos naturales. 2005. Citado el 5 de agosto del 2008 3. Disponible en: http://www.dsalud.com/numero56_1.htm
- Francia, J. (2013). Actividad Antimicrobiana -In Vitro- Del Aceite De Copaiba Frente A Bacterias Patógenas [Disertada En Internet]. Lima; Instituto De Medicina Tropical Daniel Alcides Carrión
- Inocente, T. (2017). Efecto gastroprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Mutisia acuminata* R.&P. “chinchemano” en lesiones gástricas inducidas por naproxeno sódico. Lima-Perú.
- Katz, P. (2005). Putting Immediate-Release ProtonPump Inhibitors into Clinical Practice: Improving Nocturnal and Control and Avoiding the Possible Complications of Excessive Acid Exposure Alimentary. *Pharmacology & Therapeutics*, 22(3), 31 - 38
- Llano, R., Vélez, M., & Velásquez, L. (2013). valuación para comparar dos esquemas de terapia estándar (7 frente a 10 días) contra el *Helicobacter pylori*, con seguimiento clínico a 1 año. *Revista Colombiana de Gastroenterología*. 27(2), 80 - 87.
- Leandro, L.M., De Sousa, F., Barbosa, P., Neves, J., Da Silva J.A., & Da Veiga-Junior, V.F. (2015). Chemistry and biological activities of terpenoids from copaiba (*Copaifera* spp.) oleoresins. *Molecules*. 17(4), 3866– 89.
- Lock, O. (2017). *Generalidades sobre el análisis fitoquímico*. En Investigación Fitoquímica. Métodos en el Estudio de Productos Naturales (3.a ed.). Recuperado de http://167.249.11.60/anc_j28.1/index.php?option=com_content&view=articl

e&id=333:3ra-edicion-del-libro-investigacion-fitoquimica-metodos-en-el-
estudio-de-productos-naturales-de-a-t-dra-olga-lock&catid=61

- Machaca, S. (2015). *Efecto de Copaifera paupera en el aspecto clínico de la recuperación de la mucosa alveolar post exodoncia en pacientes atendidos en el EsSalud de Juliaca*. Universidad Andina Néstor Cáceres Velásquez.
- Najm, W. (2011). Peptic Ulcer Disease. Primary Care. *Clin Office Part*. 38, 383 - 394
- Napolitano, L. (2009). Refractory Peptic Ulcer Disease. *Gastroenterol Clin Am*. 38, 267 - 288
- National Digestive Diseases Information Clearinghouse. (2010). Helicobacter pylori and Peptic Ulcers. U.S. Department of Health and Human Services National Institutes of Health NIH.
- Ofmara, Y., Carrillo, G., Pérez, S., Medina, S., & Rodríguez, O. (2007). Efectos adversos de los inhibidores selectivos de la COX-2. Crítica relacionada con su administración en los pacientes con artritis reumatoide y osteoartritis. *Revista Alergia México*. 54(4), 116 - 22
- Organización mundial de la Salud OMS (2018). Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005.
- Paivaa, L., Raoa, V., Gramosab, N., & Silveirab, E. (1998). Gastroprotective Effect Of Copaifera Langsdorffii Oleo-Resin On Experimental Gastric Ulcer.
- Peña, A., & Paco, O. (2007). Medicina Alternativa: Intento De Análisis. *Rev UNMSM. An Fac.Med*. 68(1), 87.
- Ramírez, F. (2010). Efecto gastroprotector, diurético y sobre la motilidad intestinal del extracto etanólico de Schkuhria pinnata (Lamarck) Kuntze "Canchalagua" en ratas albinas. Lima Perú.
- Regalado, V., Sánchez, P., & Mancebo, D. (2012). Tratamientos convencionales y medicina alternativa de la úlcera péptica. *Revista Cubana de Farmacia*. 46(1): 127 – 137

Sebastian, D. (2003). Úlcera Péptica. Abordaje Terapéutico. *Elsevier*. 17(6), 67 - 72

Souccar, C., & Lapa, J. (2002) CYTED: Rivaplamed. II Curso iberoamericano de Validacao de plantas medicinais com actividade gastrintestinal. Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de Sao Paulo. Brasil.

IX. ANEXOS

Anexo 01. Tabla de recolección de datos al evaluar el efecto del aceite de copaiba sobre úlceras gástricas producidas por ácido acético en ratas.

Nº	TRATAMIENTO	INFLAMACIÓN	BANDAS HEMORRAG	ULCERAS
1	SSF 4 mL/Kg	(+++)	(+++)	(+++)
2		(+++)	(++)	(+++)
3		(+++)	(+++)	(+++)
4		(+++)	(+++)	(++)
5	Omeprazol 40 mg/Kg	(++)	(+)	(+)
6		(+)	(+)	(+)
7		(+)	(+)	(++)
8		(+)	(+)	(+)
9	Aceite Copaiba 0.1 mL/rata	(+++)	(+++)	(+++)
10		(+++)	(+++)	(+++)
11		(++)	(++)	(+++)
12		(+++)	(+++)	(+++)
13	Aceite Copaiba 0.2 mL/rata	(++)	(++)	(++)
14		(++)	(++)	(+++)
15		(++)	(++)	(++)
16		(++)	(++)	(++)
17	Aceite Copaiba 0.4 mL/rata	(++)	(++)	(+)
18		(+)	(+)	(++)
19		(++)	(++)	(+)
20		(+)	(+)	(++)

Dónde: ligero = (+), moderado = (++) , severo = (+++)

Anexo 02. Tabla de recolección de datos al evaluar el efecto del aceite de copaiba sobre úlceras gástricas producidas por ácido acético en ratas.

N°	TRATAMIENTO	INFLAMACIÓN	BANDAS HEMORRAG	ÚLCERAS
1	SSF 4 mL/Kg	3	3	3
2		3	2	3
3		3	3	3
4		3	3	2
5	Omeprazol 40 mg/Kg	2	1	1
6		1	1	1
7		1	1	2
8		1	1	1
9	Aceite Copaiba 0.1 mL/rata	3	2	3
10		3	3	3
11		2	2	3
12		3	3	2
13	Aceite Copaiba 0.2 mL/rata	2	2	2
14		2	2	2
15		3	2	2
16		2	2	2
17	Aceite Copaiba 0.4 mL/rata	2	2	1
18		1	1	2
19		2	2	1
20		1	1	2

Dónde: ligero = (+) = 1, moderado = (++) = 2, severo = (+++) = 3.

Anexo 03. Estadística descriptiva del promedio de la puntuación asignada a la inflamación, al evaluar el efecto antiulceroso del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) en ratas.

Descriptor	SSF 4 mL/Kg	omeprazol 40 mg/Kg	Aceite de copaiba 0.1 mL/rata	Aceite de Copaiba 0.2 mL/rata	Aceite de Copaiba 0.4 mL/rata
Media	3,00	1,25	2,75	2,25	1,50
Error típico	0,00	0,25	0,25	0,25	0,29
Mediana	3,00	1,00	3,00	2,00	1,50
Moda	3,00	1,00	3,00	2,00	2,00
Desviación estándar	0,00	0,50	0,50	0,50	0,58
Varianza de la muestra	0,00	0,25	0,25	0,25	0,33
Curtosis	#¡DIV/0!	4,00	4,00	4,00	-6,00
Coeficiente de asimetría	#¡DIV/0!	2,00	-2,00	2,00	0,00
Rango	0,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Mínimo	3,00	1,00	2,00	2,00	1,00
Máximo	3,00	2,00	3,00	3,00	2,00
Suma	12,00	5,00	11,00	9,00	6,00
Cuenta	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Nivel de confianza(95,0%)	0,00	0,80	0,80	0,80	0,92

Anexo 04. Análisis de varianza (ANOVA) de los valores promedios de la puntuación asignada a la inflamación, al evaluar el efecto antiulceroso del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) en ratas.

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
SSF 4 mL/Kg	4	12	3	0
omeprazol 40 mg/Kg	4	5	1,25	0,25
Aceite de copaiba 0.1 mL/rata	4	11	2,75	0,25
Aceite de Copaiba 0.2 mL/rata	4	9	2,25	0,25
Aceite de Copaiba 0.4 mL/rata	4	6	1,5	0,33333333

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	9,3	4	2,325	10,7307692	0,00026065	3,05556828
Dentro de los grupos	3,25	15	0,21666667			
Total	12,55	19				

Anexo 05. Estadística descriptiva del promedio de la puntuación asignada a las bandas hemorrágicas, al evaluar el efecto antiulceroso del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) en ratas.

Descriptor	SSF 4 mL/Kg	omeprazol 40 mg/Kg	Aceite de copaiba 0.1 mL/rata	Aceite de Copaiba 0.2 mL/rata	Aceite de Copaiba 0.4 mL/rata
Media	2,75	1,00	2,50	2,00	1,50
Error típico	0,25	0,00	0,29	0,00	0,29
Mediana	3,00	1,00	2,50	2,00	1,50
Moda	3,00	1,00	2,00	2,00	2,00
Desviación estándar	0,50	0,00	0,58	0,00	0,58
Varianza de la muestra	0,25	0,00	0,33	0,00	0,33
Curtosis	4,00	#¡DIV/0!	-6,00	#¡DIV/0!	-6,00
Coeficiente de asimetría	-2,00	#¡DIV/0!	0,00	#¡DIV/0!	0,00
Rango	1,00	0,00	1,00	0,00	1,00
Mínimo	2,00	1,00	2,00	2,00	1,00
Máximo	3,00	1,00	3,00	2,00	2,00
Suma	11,00	4,00	10,00	8,00	6,00
Cuenta	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Nivel de confianza(95,0%)	0,80	0,00	0,92	0,00	0,92

Anexo 06. Análisis de varianza (ANOVA) de los valores promedios de la puntuación asignada a las bandas hemorrágicas, al evaluar el efecto antiulceroso del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) en ratas.

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
SSF 4 mL/Kg	4	11	2,75	0,25
omeprazol 40 mg/Kg	4	4	1	0
Aceite de copaiba 0.1 mL/rata	4	10	2,5	0,33333333
Aceite de Copaiba 0.2 mL/rata	4	8	2	0
Aceite de Copaiba 0.4 mL/rata	4	6	1,5	0,33333333

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	8,2	4	2,05	11,1818182	0,00020894	3,05556828
Dentro de los grupos	2,75	15	0,18333333			
Total	10,95	19				

Anexo 07. Estadística descriptiva del promedio de la puntuación asignada a las úlceras, al evaluar el efecto antiulceroso del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) en ratas.

Descriptor	SSF 4 mL/Kg	omeprazol 40 mg/Kg	Aceite de copaiba 0.1 mL/rata	Aceite de Copaiba 0.2 mL/rata	Aceite de Copaiba 0.4 mL/rata
Media	2,75	1,25	2,75	2,00	1,50
Error típico	0,25	0,25	0,25	0,00	0,29
Mediana	3,00	1,00	3,00	2,00	1,50
Moda	3,00	1,00	3,00	2,00	1,00
Desviación estándar	0,50	0,50	0,50	0,00	0,58
Varianza de la muestra	0,25	0,25	0,25	0,00	0,33
Curtosis	4,00	4,00	4,00	#¡DIV/0!	-6,00
Coefficiente de asimetría	-2,00	2,00	-2,00	#¡DIV/0!	0,00
Rango	1,00	1,00	1,00	0,00	1,00
Mínimo	2,00	1,00	2,00	2,00	1,00
Máximo	3,00	2,00	3,00	2,00	2,00
Suma	11,00	5,00	11,00	8,00	6,00
Cuenta	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Nivel de confianza(95,0%)	0,80	0,80	0,80	0,00	0,92

Anexo 08. Análisis de varianza (ANOVA) de los valores promedios de la puntuación asignada a las úlceras, al evaluar el efecto antiulceroso del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) en ratas.

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
SSF 4 mL/Kg	4	11	2,75	0,25
omeprazol 40 mg/Kg	4	5	1,25	0,25
Aceite de copaiba 0.1 mL/rata	4	11	2,75	0,25
Aceite de Copaiba 0.2 mL/rata	4	8	2	0
Aceite de Copaiba 0.4 mL/rata	4	6	1,5	0,33333333

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	7,7	4	1,925	8,88461538	0,00069352	3,05556828
Dentro de los grupos	3,25	15	0,21666667			
Total	10,95	19				



2

REPOSITORIO INSTITUCIONAL DIGITAL

FORMULARIO DE AUTORIZACIÓN PARA LA PUBLICACIÓN DE DOCUMENTOS DE INVESTIGACIÓN

1. Información del Autor				
GUERRERO ANICETO MIGUEL ARTURO		32408467	1414100387@usapedro.edu.pe	
Apellidos y Nombres		DNI	Correo Electrónico	
2. Tipo de Documento de Investigación				
☒ Tesis	☐ Trabajo de Suficiencia Profesional	☐ Trabajo Académico	☐ Trabajo de Investigación	
3. Grado Académico o Título Profesional ^(*)				
☐ Bachiller	☒ Título Profesional	☐ Título Segunda Especialidad	☐ Maestría	☐ Doctorado
4. Título del Documento de Investigación				
Efecto del aceite de <i>Copaifera paupera</i> (Copaiba) sobre úlceras gástricas inducidas por ácido acético en ratas.				
5. Programa Académico				
FARMACIA Y BIOQUÍMICA				
6. Tipo de Acceso al Documento				
☒ Abierto a todos ^(*) (https://repositorio.usapedro.edu.pe/)		☐ Acceso restringido ^(*) (https://repositorio.usapedro.edu.pe/secretos/) ^(*)		
^(*) En caso de restringido sustentar motivo:				

A. Originalidad del Archivo Digital

Por el presente dejo constancia que el archivo digital que entrego a la Universidad, es la versión final del trabajo de investigación sustentado y aprobado por el Jurado Evaluador y forma parte del proceso que conduce a obtener el grado académico o título profesional.

B. Otorgamiento de una licencia CREATIVE COMMONS [®]

El autor, por medio de este documento, autoriza a la Universidad, publicar su trabajo de investigación en formato digital en el Repositorio Institucional Digital, al cual se podrá acceder, preservar y difundir de forma libre y gratuita, de manera íntegra a todo el documento. [®]

Huella Digital		Firma									
		<table border="1"> <thead> <tr> <th>Lugar</th> <th>Día</th> <th>Mes</th> <th>Año</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Chimbote</td> <td>08</td> <td>03</td> <td>2022</td> </tr> </tbody> </table>		Lugar	Día	Mes	Año	Chimbote	08	03	2022
Lugar	Día	Mes	Año								
Chimbote	08	03	2022								

Engañoso:

1. Según Resolución de Consejo Directivo N° 003-2019-SUNEDU-CD, Reglamento del Registro Nacional de Trabajos de Investigación para optar a grados académicos y títulos profesionales, art. 8, inciso 8.2.
2. Ley N° 30533, Ley que regula el Repositorio Institucional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de acuerdo a la Ley N° 30533, Ley que regula el Repositorio Institucional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de acuerdo a la Ley N° 30533.
3. Si el autor otorga el tipo de acceso abierto a público, excepto a la Universidad San Pedro una licencia no exclusiva, para que se pueda hacer uso de la obra y difundir en el Repositorio Institucional Digital. Resguardando siempre los Derechos de autor y Propiedad Intelectual de acuerdo a lo dispuesto en la Ley 822.
4. En caso de que el autor otorgue segundo acceso, se deberá publicar los datos de autor y visiblemente la obra de acuerdo a la directiva N° 2019-2019-CD/UT/UT-0002, anexos 12 y 13 que como el Funcionamiento del Repositorio Institucional Digital.
5. Las Licencias Creative Commons (CC) es una organización internacional sin fines de lucro que promueve la disponibilidad de los autores un conjunto de licencias (flexibles y de conocimiento) que permiten al autor de compartir, reutilizar, redistribuir y modificar su obra. Estas licencias también garantizan que el autor conserve el crédito por su obra.
6. Según el inciso 1.2 del artículo 1.2 del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos de Investigación para optar a grados académicos y títulos profesionales, el autor y el asesor de tesis tienen como obligación registrar todos los trabajos de investigación y proyectos, incluyendo los resultados en sus respectivos institucionales previendo a ser de acceso abierto o restringido, lo cual se debe hacer de manera voluntaria por el Repositorio Digital (RDI) en virtud del Reglamento AGCIP.

Nota: En caso de falsedad en los datos, se procederá de acuerdo a la Ley 27444, art. 12, inciso 12.3.

2. Reporte de similitud

Efecto del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) sobre úlceras gástricas inducidas por ácido acético en ratas.

INFORME DE ORIGINALIDAD

23%	23%	1%	3%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.usanpedro.edu.pe Fuente de Internet	14%
2	repositorio.unheval.edu.pe Fuente de Internet	3%
3	cybertesis.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	1%
4	repositorio.uwiener.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	www.tuasaude.com Fuente de Internet	1%
6	eprints.ucm.es Fuente de Internet	1%
7	repositorio.uladech.edu.pe Fuente de Internet	<1%
8	publicaciones.usanpedro.edu.pe Fuente de Internet	<1%
9	1library.co Fuente de Internet	



		<1 %
10	repositorio.uroosevelt.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
11	www.sarda.org.ar Fuente de Internet	<1 %
12	repositorio.unal.edu.co Fuente de Internet	<1 %
13	repositorio.cientifica.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
14	db.doyma.es Fuente de Internet	<1 %
15	repositorio.uigv.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
16	pesquisa.bvsalud.org Fuente de Internet	<1 %
17	theibfr.com Fuente de Internet	<1 %



Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias < 10 words

Excluir bibliografía

Activo