

ESTUDIO FITOQUIMICO, TOXICIDAD AGUDA Y EFECTOS ANTIULCEROSO Y ANTITUMORAL DE LOS EXTRACTOS ACUOSO, ETANOLICO Y METANÓLICO DE *Capsicum pubescens*, «Rocoto»

PHYTOCHEMICAL STUDY, ACUTE TOXICITY AND ANTI-ULCER AND ANTI-TUMOR EFFECTS OF AQUEOUS, ETHANOLIC AND METHANOLIC EXTRACTS OF *Capsicum pubescens* «Rocoto»

Benjamín Castañeda C.* y Alberto Salazar G.**
Facultad de Medicina Humana

Recibido:

Aceptado:

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la composición química, la toxicidad aguda y los efectos antiulceroso y antitumoral de tres extractos de *Capsicum pubescens* (ROCOTO) en estudios preclínicos. **Materiales y métodos:** Estudio experimental preclínico, analítico. Utilizamos 50 ratas albinas machos para evaluar el efecto antiulceroso y 86 ratones albinos para evaluar el efecto antitumoral y la toxicidad aguda. El tamizado fitoquímico se realizó con el método de Ciulei. Para producir las úlceras gástricas usamos Indometacina como agente ulcerígeno. El efecto antitumoral de *Capsicum pubescens*, fue evaluado frente al sarcoma-180. La toxicidad aguda (DL₅₀) fue evaluada con dosis de 500, 1000, 2000, 10000 y 12000 mg/kg de peso de rocoto. **Resultados:** En el estudio fitoquímico, detectamos grasas, aceites, alcaloides, lactonas, coumarinas, triterpenos, esteroides, catequinas, resinas, azúcares reductores, fenoles y taninos, entre otros. Apreciamos reducción de las lesiones gástricas macroscópicas producidas por indometacina con los extractos acuoso y etanólico de rocoto, superiores a los de la ranitidina. No observamos mortalidad en los ratones hasta la dosis de 12,000 mg/kg de peso, del extracto metanólico de rocoto. El extracto metanólico de rocoto, mejoró la sobrevida de los ratones inoculados con sarcoma, cuando se administró

preventivamente, siendo mayor el efecto a la dosis de 750 mg/kg. **Conclusiones:** Los extractos acuoso y etanólico de rocoto, presentaron propiedades gastroprotectoras, dosis dependiente, superiores a Ranitidina, y el extracto metanólico presentó efecto antitumoral frente al sarcoma-180, administrado preventivamente y es, prácticamente, atóxico según los criterios de Williams.

Palabras clave: Lesión gástrica, agente antiulceroso, *Capsicum pubescens*, extractos acuoso, etanólico y metanólico, acción antitumoral, toxicidad aguda.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the chemical composition, the acute toxicity and anti-ulcer and anti-tumoral effects of aqueous, ethanolic and ethanoic extracts of *Capsicum pubescens* (ROCOTO) in preclinical studies. **Materials and Methods:** Analytic, pre-clinical, experimental study. 50 albino male rats were used to evaluate the anti-ulcer effect and 86 albino male mice to evaluate the acute toxicity and anti-tumor effect. Indomethacin was used as ulcerogenic agent. To evaluate the anti-tumor effect of methanolic extract of «rocoto», at different doses, we used 60 albino male mice, against sarcoma-180. The acute toxicity was evaluated in 30 albino male mice with doses of 500, 1000, 2000 10000 y 12000 mg/ of methanolic extract of «rocoto». **Results:** In the phytochemical screening we found: fats, oils, alkaloids, lactones, coumarins, triterpenes, steroids, catechins, resins, redactors sugar, phenols, tannins and others. We also observed reduction of macroscopically gastric lesions induced by Indomethacin by aqueous and ethanolic extracts of «rocoto» better than those of ranitidine. There was not mortality with rocoto until the dose of 12,000 mg/kg. The methanolic extract of rocoto increased the survival of mice inoculated with sarcoma-180, when it's used preventively being better with the dose of 750 mg/. **Conclusions:** The aqueous and ethanolic extracts of «rocoto» showed gastroprotective properties at doses of 250 and 500 mg / Kg, superior to ranitidine. The methanolic extract had anti-tumor effect against sarcoma-180 and was, practically, nontoxic according to Williams' criteria.

Key words: Gastric lesions, antiulcer agent, *Capsicum pubescens*, aqueous, ethanolic and methanolic extracts, anti-tumor action, acute toxicity

Introducción

El pimiento es una herbácea perenne, con ciclo de cultivo anual, de tamaño variable, de 0,5 a 2 metros de altura, según la variedad y tipo de cultivo. El fruto es una baya hueca, no jugosa, carnosa, semicartilaginosa y deprimida, que cuelga de la planta mediante un pedúnculo. El fruto es de color muy variado (verde, rojo, amarillo, naranja, violeta o blanco); cuando están maduros adquieren, en su mayoría, un color rojizo, aunque los hay amarillos o anaranjados¹ (Figura 1).

Por otra parte, las formas son muy variadas: alargadas, cuadradas, achatadas, redondeas, etc. El tamaño de los frutos es variable, pudiendo alcanzar un peso de más de 500 g. Los frutos son sabrosos y su sabor puede ser dulce o picante; por lo general, los más pequeños son los más picantes.¹

El pimiento es originario de América del Sur, de la zona de Bolivia y Perú, fue llevado a Europa por Cristóbal Colón en 1493, después de su primer viaje desde Haití, e introducido en el grupo de los saborizantes y de las hortalizas del Viejo Mundo.¹

En la actualidad es cultivado en regiones áridas y secas del sur de Europa, América Central, la India y Asia Central. Tanto es así, que actualmente cerca de la mitad del pimiento del mundo se produce en el área del Mediterráneo.¹



Figura 1. *Capsicum pubescens*

En el Perú, el nombre vulgar de *Capsicum pubescens* es el rocoto, cuyo cultivo se remonta desde épocas pre-incas hasta la actualidad. Es reconocido un importante uso gastronómico en el Perú y a nivel internacional;¹ lo que, probablemente, ha determinado que en la actualidad se esté realizando una serie de investigaciones acerca de sus potenciales efectos positivos y negativos para la salud.

Los pimientos contienen, principalmente, hidratos de carbono en pequeña cantidad proteínas y muy pocos lípidos (grasas), y un alto contenido de agua (aproximadamente un 90%), y sobre todo, capsaicinoides como capsaicina en 32,9% y dehidrocapsaicina en 53,2%.²

La capsaicina (trans-8-metil-N-vanillil-6-nonenamida), es un derivado del ácido homovalínico y representa el componente picante de las especies del género *Capsicum* (ver Figura 2). Además, la capsaicina es el constituyente que más se ha estudiado y que ha demostrado tener propiedades analgésicas, antiinflamatorias, antioxidantes, inmunosupresivas y antitumorales.^{1,2, 3,4}

La introducción del pimiento en Europa significó un avance culinario, ya que llegó a complementar e incluso a sustituir a otro condimento muy empleado por esa época, como era la pimienta negra (*Pipernigrum* L.), de gran importancia comercial entre Oriente y Occidente. Las plantas de los pimientos pertenecen a las especies y variedades del género *Capsicum*, de la familia *Solanaceae* (al igual que el tomate, la papa, el tabaco o la berenjena) y poseen una gran variabilidad genética, lo que ha determinado¹ que existan discrepancias con respecto a su denominación botánica.⁵

El género *Capsicum* incluye 23 especies reconocidas, de las cuales solo cinco son cultivadas: *C. annuum*, *C. baccatum*, *C. frutescens*, *C. pubescens* y *C. chinense*. *Capsicum annuum* es la especie más difundida, y sobre la que existe mayor número de trabajos de mejora genética.⁶

El fruto de esta planta ha sido y es usado ampliamente por todo el mundo, ya sea como alimento o como especia, por su sabor, aroma y color, o como medicina, por sus marcadas propiedades curativas de determinadas afecciones. Además de las propiedades mencionadas, los llamados «pimientos o guindillas ornamentales» tienen un uso muy difundido por sus

propiedades decorativas. La mayoría de estos pimientos ornamentales, son de color rojo o naranja, aunque también los hay de color blanco, amarillo y morado. El sabor picante de los pimientos es el que determina la gran demanda en el mundo, y sobre todo en las Américas y el Caribe, y es debido al alto contenido de capsaicinoides.¹

Los pimientos, especialmente los rojos maduros, poseen un alto contenido de sustancias antioxidantes y constituyen una fuente importante de vitamina C, vitamina A y licopeno, constituyéndose en uno de los alimentos desintoxicantes más importantes. El contenido de vitamina C de los pimientos rojos maduros, es más del doble que el de los cítricos (limones, naranjas, pomelos, etc.); además, constituyen una fuente importante de carotenos y vitamina A y, en menor cantidad, de vitamina E, B1 y ácido fólico. Cuando están bien maduros contienen, junto a los tomates, un componente denominado licopeno que constituye, al igual que la vitamina C, uno de los mejores antioxidantes. Los pimientos, además, son ricos en fibra dietética y minerales como fósforo, potasio, magnesio, hierro y calcio, con cantidades muy bajas de sodio.

Entre los compuestos con marcadas propiedades biológicas que aparecen en los pimientos destacamos los siguientes grupos de compuestos:

- **Carotenoides:** entre los que destacan xantofilas, caroteno, luteína, capsantina, capsorrubina, criptoxantina, zeaxantina, anteraxantina, violaxantina, neoxantina.^{7,8,9}
- **Vitamina A, Vitaminas (B):** tiamina (B1), riboflavina (B2), niacina (B3), piridoxina (B6). Ácido ascórbico (**vitamina C**), cuyas concentraciones varían desde 40 a 250 mg/100 g de pimiento fresco. Tocoferol (**vitamina E**), en concentraciones que van desde 3 a 250 mg/100 g de pimiento seco. **Ácidos fenólicos libres** (protocatéquico, clorogénico, cumárico, ferúlico, cinámico, cafeico, etc.); **Ácidos orgánicos** (málico, oxálico, cítrico, fumárico, quínico, etc.). **Azúcares solubles** (glucosa, fructosa, etc.) **Flavonoides** (quercetina, luteolina, etc.). **Lípidos. Compuestos volátiles** (aldehídos, cetonas, alcoholes, pirazinas, etc.)? **Capsaicinoides** (capsaicina, dihidrocapsaicina, entre otros). **Capsinoides** (capsiato, dihidrocapsiato, entre otros).

A los pimientos (dulces o picantes), se les atribuye el hecho de ser muy «indigestos», lo que dista mucho de la verdad; muy por el contrario, los pimientos crudos son más digeribles que los cocidos y favorecen la digestión al estimular la producción de los jugos gástricos y biliares. Incluso, los pimientos picantes han demostrado tener un efecto positivo en la prevención de úlceras de estómago.^{10, 11, 12, 13} El mismo componente picante (capsaicina) protege las membranas gástricas y parece impedir el desarrollo de úlceras, tal como se ha demostrado en numerosos experimentos en animales. Dentro de las propiedades beneficiosas del pimiento, en el aparato digestivo, se mencionan las acciones antidiarreicas y antieméticas.¹

La capsaicina es el principio pungente (picante) del pimiento picante y, en experimentos en ratas, ha demostrado que los nervios sensoriales capsaicina-sensitivos están involucrados en los mecanismos locales de defensa contra la producción de úlcera gástrica. La estimulación de los nervios sensitivos capsaicina-sensibles, con bajas dosis de capsaicina, protege la mucosa gástrica de las ratas, contra diversos agentes ulcero-génicos.¹³

No todos los pimientos tienen el mismo grado de picor; unos son más picantes que otros, depende de la especie. Wilbur Scoville, en 1912, estableció una escala para medir el picor de los pimientos, a la que hoy en día se la conoce como escala de Scoville (SHU), de sus siglas en inglés: Scovilleheatunits, determinada por el número de veces que se tiene que diluir hasta que no se sienta el picor (Tabla 1).

En la actualidad se acepta que el *Helicobacter pylori*, es el factor más importante en la génesis de la úlcera duodenal, la úlcera gástrica y el cáncer gástrico, y que la erradicación del *H. pylori* favorece la curación de la úlcera. La capsaicina, componente que le da el sabor al pimiento, posee efectos fisiológicos y farmacológicos y presenta actividad antimicrobiana y puede constituir una alternativa importante en el tratamiento de la enfermedad ulcero-péptica producida por *H. pylori*.^{14, 15}

Sabemos que la hemorragia digestiva es una entidad clínica frecuente y la principal causa de las emergencias gastroenterológicas. Asimismo, las tres principales causas de hemorragias digestivas están ocasionadas por las úlceras duodenales y gástricas, y en tercer lugar las várices esofágicas;

Tabla 1
Escala de Scoville

Unidades Scoville	Tipo de chile
15.000.000–16.000.000	Capsaicina pura
8.600.000–9.100.000	Varios capsaicinoides, como homocapsaicina, homodihydrocapsaicina y nordihydrocapsaicina
2.000.000–5.300.000	Nivel estándar del aerosol de pimienta en EE.UU. munición irritante del FN 303
1.300.000–2.000.000	Naga Viper, Trinidad Scorpion Butch T
855.000–1.041.427	NagaJolokia
350.000–580.000	Habanero Savinas Roja
100.000–350.000	Chile habanero, Scotch Bonnet, Chile datil, <i>Capsicum chinense</i>
100.000–200.000	Rocoto, chile jamaicano picante, pipiripi
50.000–100.000	Chile thai, chilemalagueta, chilechiltepín, chilepiquín
30.000–50.000	Pimienta roja o de cayena, ají escabeche, chile tabasco, algunas tipos de chile chipotle
10.000–23.000	Chile serrano, algunos tipos de chile chipotle
5.000–8.000	Variedad de Nuevo México del chile anaheim, chile húngaro de cera
2.500–5.000	Chile jalapeño, Pimiento de Padrón, Salsa Tabasco
1.500–2.500	Chile rocotillo
1.000–1.500	Chile poblano
500–1.000	Chile anaheim
100–500	Pimiento, pepperoncini
0	No picante, pimiento verde

conociendo que uno de los factores más importantes en la génesis de las úlceras gastroduodenales, lo constituye el *H. pylori*, el empleo de la capsaicina podría constituir un elemento importante en la reducción de la incidencia de hemorragias digestivas, así como las emergencias por dicha causa.^{14, 15, 16}



Figura 2. Fórmula de la capsaicina

El cáncer sigue siendo un problema de salud pública a nivel mundial, tanto en países desarrollados como en los que están en vías de desarrollo. Uno de los grandes problemas en el manejo del cáncer es el dolor, por una serie de factores, que van desde la compresión nerviosa por parte del tumor, hasta el dolor neuropático, por el tratamiento quimioterápico, o el producido por neoplasias paraneoplásicas (no debidas a metástasis), cuyo representante más genuino es la neuropatía periférica; dolor debido a los diversos tratamientos del cáncer (radioterapia, cirugía, quimioterapia): la capsaicina ha demostrado su eficacia en el tratamiento del dolor neuropático,^{17, 18, 19, 20} asimismo, ha demostrado actividad antitumoral, en diferentes tipos de cáncer, inhibición de la expresión de genes responsables de cáncer, inducción de apoptosis, inducción de muerte celular en líneas celulares de adenocarcinoma gástrico en humanos, inhibición de la angiogénesis invitro, etc.^{21, 22, 23, 24}

En razón de las variadas acciones de la capsaicina, componente esencial de los pimientos picantes, este estudio se centró en la evaluación de los metabolitos secundarios, y las posibles acciones antiulcerosas y antitumorales del rocoto, cuyo uso, en nuestro país, es sumamente difundido, fundamentalmente por su importancia en nuestra gastronomía

Materiales y Métodos

Tipo de estudio

Experimental, analítico, prospectivo, realizado en el Centro de Investigación de Medicina Tradicional y Farmacología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres.

Material biológico

- **Animal:** 40 ratas Holtzman machos y 86 ratones albinos machos (*Mus musculus*) adquiridas en la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Los animales fueron aclimatados a condiciones estándar en el Bioterio de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres, donde se mantuvieron en condiciones adecuadas de humedad (menos de 70%) y temperatura (18 °C +/- 2), ciclos de luz/oscuridad de 12 horas, y con acceso a alimento balanceado y agua *ad libitum*, acorde con las recomendaciones del *International Guiding Principles for Biomedical research Involving Animal* (1985)²⁵ y la Declaración Universal de los Derechos del animal.²⁶
- **Vegetal:** Se utilizaron 3 kilos de rocoto (*Capsicum pubescens*) adquirido en un supermercado de la ciudad de Lima, estos se mantuvieron en refrigeración entre 2 y 6 °C hasta el día de su uso. Asimismo, la clasificación taxonómica se realizó según el método de Conquist.²⁷

Material de Laboratorio

- Balanza digital (Marca: Acculab Sartorius Group ALC 210-4)
- Balanza para medición del peso de las ratas (Marca Salter Brecknel, modelo: 405 s/n 0506000)

- Estufa (Marca: Fanem, fabricada en Sao Paulo Brasil, modelo 002CB)
- Estereomicroscopio (Marca: AJJEITZ, modelo N° 0912406)
- Probeta (Marca: Fortuna Poulten & Graf 50, de 1 ml).
- Beaker de vidrio y placas Petri de vidrio
- Matraz Erlenmeyer (Marca: Schott Duran, de 100 ml)
- Papel aluminio, tecnopor, espátula, alfileres y frasco para maceración de 5 litros
- Microscopio, portaobjetos y cubreobjetos.
- Sondas orogástricas
- Pinzas, bisturí y tijeras
- Beakers, pipetas, varilla, probetas, y placas petri
- Material químico
- Etanol 96° marca Inkafarma, Agua bidestilada, Metanol al 100%, e Indometacina
- Tamizado Fitoquímico

El método utilizado para realizar el tamizado fitoquímico fue el de Ciulei²⁸ y se realizó de la siguiente manera: Se pesó 30 g de material vegetal, a los cuales se les agregó 90 ml de éter etílico. Se maceró durante 48 horas a temperatura ambiental para después filtrar y tener por un lado un extracto en éter etílico; y por otro lado, un residuo sólido.

Del residuo sólido, se extrajo 3 veces el peso del residuo en volumen con etanol para volver a macerar durante 48 horas. De este macerado, obtuvimos un extracto en alcohol etílico; y también, un residuo sólido que dejamos secar para luego pesar.

De este último residuo sólido, se extrajo 3 veces el peso del residuo en volumen con agua destilada por maceración durante 48 horas. De esto, se obtuvo un extracto en agua destilada y por otro lado, un residuo sólido final.

Seguidamente, se realizó las diferentes pruebas químicas de coloración y precipitación para la detección de metabolitos secundarios, utilizando los siguientes reactivos: Para grasa y aceites, ensayo de Sudán. Para alcaloides, Dragendorf, Mayer y Wagner. Para lactonas y coumarinas, ensayo de Baliet. Para triterpenos o esteroides, ensayo de Lieberman-Burchard. Para azúcares reductoras, ensayo de Felling. Para saponinas, ensayo de espuma. Para fenoles, ensayo de cloruro férrico. Para flavonoides, ensayo de Shinoda. Para mucílago, ensayo de mucílago.

Para catequinas, ensayo de catequinas. Para resinas, ensayo de resinas, Para taninos, ensayo de gelatina. Para aminoácidos libres de aminas, reactivo de Ninhidrina. Para quinonas, ensayo de Bomtrager. Para antocianidas, ensayo de antocianidina.

Elaboración del extracto acuoso y etanólico

Se realizó a partir de trozos de *Capsicum pubescens*, de aproximadamente 1cm²; se pesó en una balanza digital, 200 g de *Capsicum pubescens* y el resto se secó al aire libre para su posterior uso en el tamizado fitoquímico.

Se descargó el material vegetal en un frasco vacío de 5 litros, se agregó 1 litro de agua y se selló herméticamente. Se realizó ciclos de sacudidas de una hora, manualmente, durante los días consecutivos al sellado. Se realizó el mismo procedimiento para la elaboración del extracto etanólico. La solución fue al 20%.

El mismo procedimiento fue realizado para la elaboración del extracto metanólico.

El extracto pasó por el proceso de filtración, y el filtrado obtenido fue vertido en placas Petri a razón de 30 ml por placa, y se dejó secar en estufa. Después de 3 días, se procedió al raspado de las placas petri con espátula y se depositó el residuo sólido en un matraz Erlenmeyer de 50 ml, y se selló con papel aluminio. Se mantuvo en refrigeración a 2-6 °C.

Efecto Antiulceroso

Las 50 ratas fueron distribuidas en 6 grupos, que recibieron, respectivamente:

- Grupo 1: constituido por 10 ratas, recibió extracto acuoso de rocoto, 250 mg /kg.
- Grupo 2: constituido por 10 ratas, recibió extracto acuoso, 500 mg/kg.
- Grupo 3: conformado por 10 ratas, recibió extracto etanólico 250 mg/kg.
- Grupo 4: conformado por 5 ratas, recibió extracto etanólico 500 mg/kg.
- Grupo 5: Control positivo, conformado por 5 ratas, recibió ranitidina 10 mg/kg.
- Grupo 6: Control negativo, recibió agua destilada.

Antes de los experimentos se les sometió a ayuno por 24 horas; luego se les administró las diferentes sustancias por vía oral, a través de una cánula oro-gástrica. Una hora después recibieron indometacina a la dosis de 75 mg/kg de peso. Tres horas después de recibir indometacina, se les volvió a administrar las sustancias de estudio a cada grupo. Seis horas después de la administración de indometacina, los animales fueron sacrificados por desnucamiento; inmediatamente después se les realizó la laparotomía, a través de una incisión abdominal mediana, extrayéndoles el estómago, el cual fue abierto y lavado cuidadosamente con una corriente suave de agua. Se extendió los estómagos sobre una tabla de tecnopor, mediante alfileres, para evaluar el número y tamaño de lesiones de la mucosa gástrica.

En la evaluación de los resultados del tratamiento, se consideró el número total de úlceras y el promedio de los índices de lesión que fueron determinados de acuerdo con el grado de lesión, como se describe en la Tabla 2.

Tabla 2*Categorización de la lesión gástrica según parámetros de evaluación macroscópica*

VARIABLE	ALTERACIÓN	PUNTAJE
Coloración de mucosa	Normal	0
	Hiperemia	1
	Decolorada	2
Pliegues de mucosa	Normal	0
	Pérdida	1
	Ausencia	0
Petequias	Leve	1
	Moderada	2
	Marcada	3
Edema de mucosa	Ausencia	0
	Leve	1
	Moderado	2
	Marcado	3
Hemorragia	Ausencia	0
	Leve	1
	Moderada	2
	Marcada	3
Pérdida de moco	Normal	0
	Leve	1
	Moderada	2
	Marcada	3
Úlcera	Ausencia	0
	Leve	1
	Moderado	2
	Marcada	3
Exudado	Presencia	3
Puntaje máximo		21

Lesión gástrica según parámetros de evaluación macroscópica:

A: lesión leve: menos de 5,25

B: lesión moderada: mayor de 5,25 y menor de 10,5

C: lesión marcada: mayor de 10,5

El mayor índice de lesión será 21

Efecto Antitumoral

Se utilizaron células de Sarcoma 180, que fueron obtenidas de cultivos celulares procesados. Se emplearon ratones albinos machos.

Los grupos experimentales fueron los siguientes:

- Grupo 1, control: Se les inoculó vía intraperitoneal, células tumorales, que desarrollaron el curso natural de la enfermedad.
- Grupo 2, Sarcoma más Rocoto, dosis de 1000 mg/kg: Se les inoculó células de sarcoma 180 por vía intraperitoneal, y conjuntamente se le administró por vía oral, una dosis de 1000 mg/kg de rocoto desde el primer día de estudio.
- Grupo 3, 4 y 5, Sarcoma + Rocoto preventivo a la dosis de 500, 750 y 1000 mg/kg: Se les administró de manera preventiva durante 11 días, luego se inoculó sarcoma, y se continuó con la administración diaria de rocoto, continuando después de dicha inoculación con la administración de rocoto por 1 mes más, aproximadamente.

Evaluación del desarrollo del sarcoma

Evaluación macroscópica. Para la evaluación macroscópica del desarrollo de tumor se procedió a registrar las siguientes variables:

- Peso individual de los ratones, tanto en los animales del grupo control como en los del grupo preventivo y paralelo, se realizó antes y después del implante de las células tumorales
- Presencia de Sarcoma (S) y medición del tamaño del tumor, mediante palpación.
- Presencia de líquido ascítico (LA), mediante observación y medición del perímetro abdominal.

Evaluación microscópica. Se realizó la disección de todos los animales que habían sobrevivido al final del experimento, extrayéndose órganos

como hígado, riñones, estómago y, en aquellos casos donde se presentaron metástasis, cerebro, además de las formaciones tumorales.

Posteriormente, las diferentes estructuras separadas de cada ratón fueron procesadas para un estudio histopatológico. Para el estudio de toxicidad aguda, se utilizó 30 ratones distribuidos en cinco grupos de 6 animales.

Aspectos Éticos

Se siguieron los lineamientos del *International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animal*²⁵ y la Declaración Universal de los Derechos del Animal.²⁶ Por ello, se tomó en cuenta lo siguiente: La investigación debe ejecutarse cuando los resultados sean de utilidad para los humanos. Los animales fueron adquiridos de una fuente confiable especializada en la crianza de animales. Aseguramos que el alojamiento sea cómodo y amplio, y proporcionar comida balanceada de calidad. Fueron manipulados con suavidad y tratando de no hacerles sufrir innecesariamente. El estudio contó con la aprobación del Instituto de Investigación de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres.

Análisis Estadístico

Los resultados se expresaron como medias +/- desviación estándar para las variables cuantitativas. Frecuencias absolutas y relativas para las variables cuantitativas. Para la validación estadística se aplicó la prueba de ANOVA y χ^2 de Pearson respectiva, considerando significancia estadística para un valor $p < 0.05$ a un intervalo de confianza del 95%. Se usó como soporte informático, Microsoft Office 2010 y GraphPad Versión 5.01

Resultados

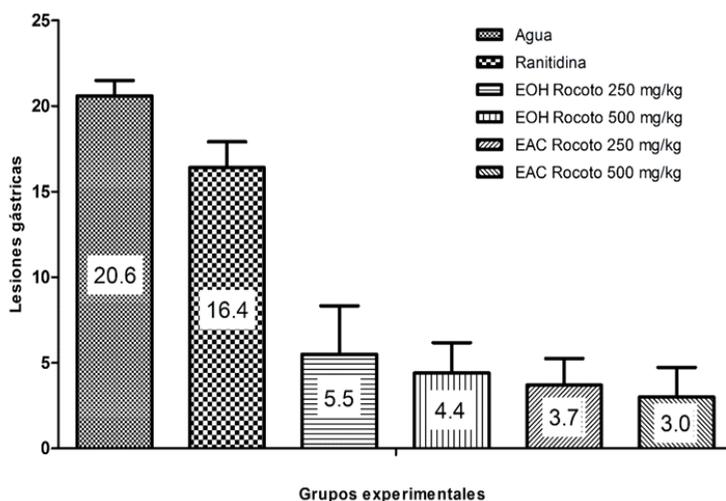
Los resultados constan en las tablas y figuras que presentamos a continuación. En la Tabla 3, constan los resultados del tamizado fitoquímico, apreciamos que en los tres tipos de extractos, predominan los alcaloides. En el extracto en éter etílico, predominan los alcaloides, lactonas y triterpenos; mientras que en el extracto etanólico predominan los alcaloides, las saponinas y los triterpenos (ver Tabla 3).

Tabla 3
Tamizado fitoquímico

Compuesto	Ensayo	E. acuoso	E. Éter etílico	E. etanólico
Grasas	Sudán		+	
Alcaloides	Dragendorff			
Mayer				
Wagner	+++			
++				
++	+++			
+++				
+++	+++			
+++				
+++				
Lactonas y coumarinas	Bajlet		+++	
Triterpenos/esteroides	Lieberma-Buchard		+++	++
Azúcares reductores	Felling	+		
Saponinas	De espuma	+		+++
Fenoles	Cloruro férrico	-		-
Flavonoides	Shinoda	+		-
Mucilagod	mucilago	+		
Catequinas	catequinas			+
Resinas	resinas			+
Taninos	gelatina			-
Aminoácidos libres	Ninhidrina			
Antocianinas	antocianidina			+
Quinonas	Bomtrager			-

En el gráfico 1, se presenta el puntaje de la evaluación macroscópica de las lesiones gástricas en los diferentes grupos de estudio. Debemos indicar que el puntaje máximo individual de lesiones es 21, lo que nos permite obtener el grado de ulceración (lesión gástrica) y el porcentaje de protección por las distintas sustancias evaluadas. Es de recalcar el elevado grado de protección de los extractos de rocoto, sobre las lesiones inducidas por indometacina, muy superiores a las de la ranitidina.

Gráfico 1: Efecto del Rocoto (*Capsicum pubescens*) sobre las lesiones gástricas inducidas por Indometacina



La prueba de ANOVA de una cola, revelo un valor $p < 0.05$, con un intervalo de confianza al 95%.
La prueba de pareo de Tukey, revelo un valor $p < 0.05$ de todos los grupos experimentales, frente al grupo agua.
La prueba de pareo de Tukey, revelo un valor $p < 0.05$ de todos los extractos de rocoto, frente al grupo Ranitidina.

Categorización de la lesión gástrica según parámetros de evaluación macroscópica:

- A) Lesión leve= menos de 5.25.
- B) Lesión moderada= mayor de 5.25 y menor de 10.5.
- C) Lesión marcada = mayor de 10.5.

EOH (Extracto etanólico de rocoto). EAC (Extracto acuoso de rocoto)

En la Figura 3, se muestran las evaluaciones macroscópicas de las lesiones gástricas producidas por indometacina, en los diferentes grupos, apreciamos, claramente, la protección por los extractos de rocoto, en las diferentes dosis utilizadas.

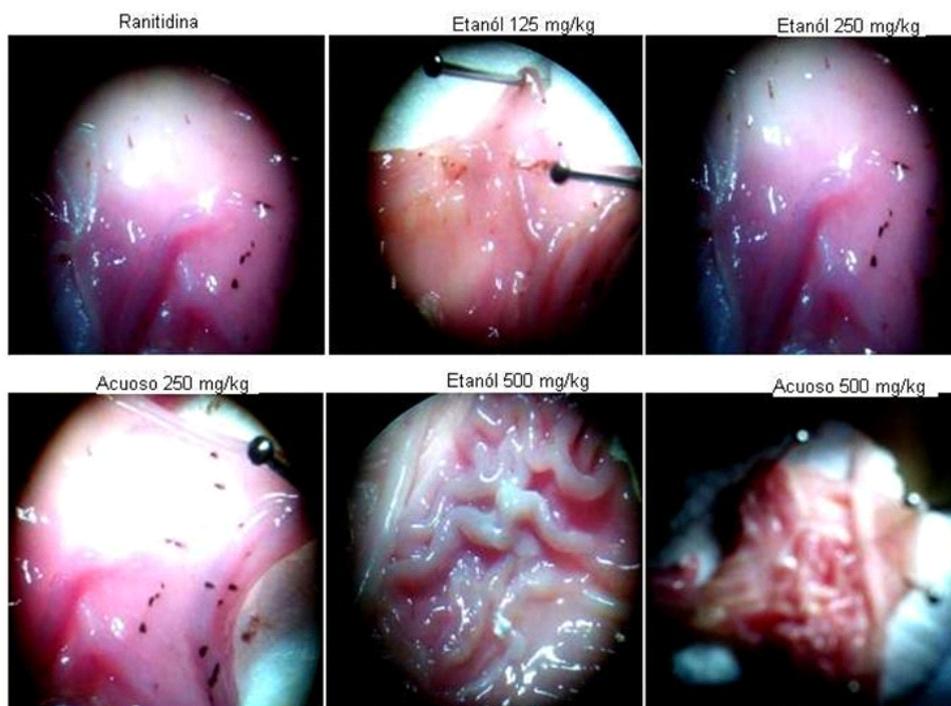


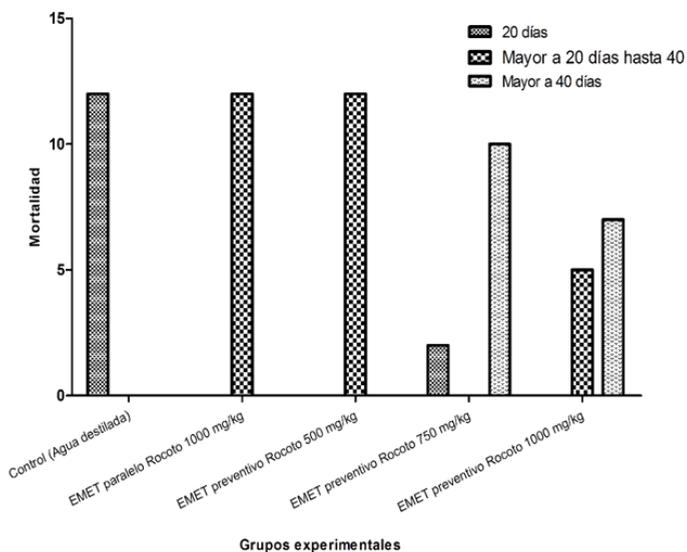
Figura 3. Evaluación macroscópica de estómagos

En el gráfico 2, se muestra los resultados de la evaluación del efecto antitumoral del rocoto, se consigna la mortalidad; podemos apreciar, claramente, que el rocoto prolonga significativamente, la mortalidad de los animales, en relación al grupo control. Asimismo, en el gráfico 3, la presencia de tumor, y en el gráfico 4, la presencia de líquido ascítico, en los diferentes grupos, apreciando, en ambos casos, el efecto favorable del rocoto.

Se aprecia que el extracto metanólico de rocoto, en las diferentes dosis, modifica favorablemente los parámetros evaluados.

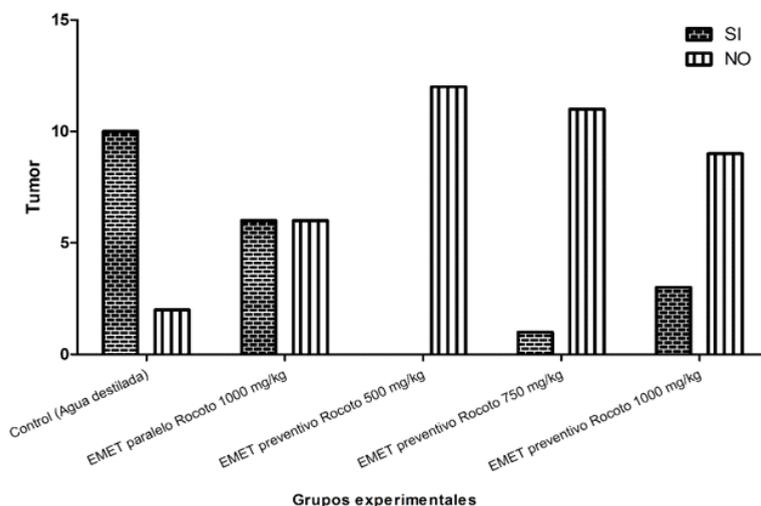
RESULTADOS DEL EFECTO ANTITUMORAL

Gráfico N° 2: Efecto del Rocoto (*Capsicum pubescens*) sobre Incidencia de la mortalidad, por acción de células tumorales de Sarcoma 180

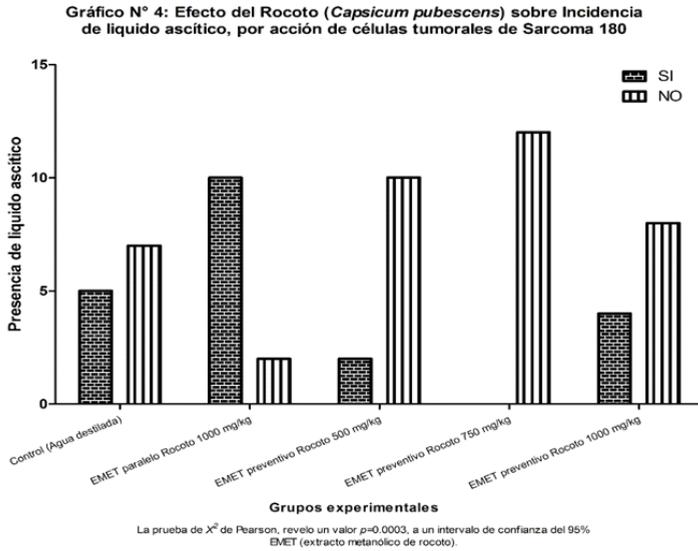


La prueba de χ^2 de Pearson, revelo un valor $p < 0,0001$, a un intervalo de confianza del 95%. EMET (extracto metanólico de rocoto)

Gráfico N° 3: Efecto del Rocoto (*Capsicum pubescens*) sobre Incidencia de tumores, por acción de células tumorales de Sarcoma 180



La prueba de χ^2 de Pearson, revelo un valor $p < 0,0001$, a un intervalo de confianza del 95%. EMET (extracto metanólico de rocoto).



En el gráfico 5, se observa el porcentaje de supervivencia en relación a la evolución por días de experimentación, pudiendo apreciar la mayor supervivencia por acción del rocoto.

En la Tabla 4, consignamos los hallazgos histopatológicos de los órganos evaluados.

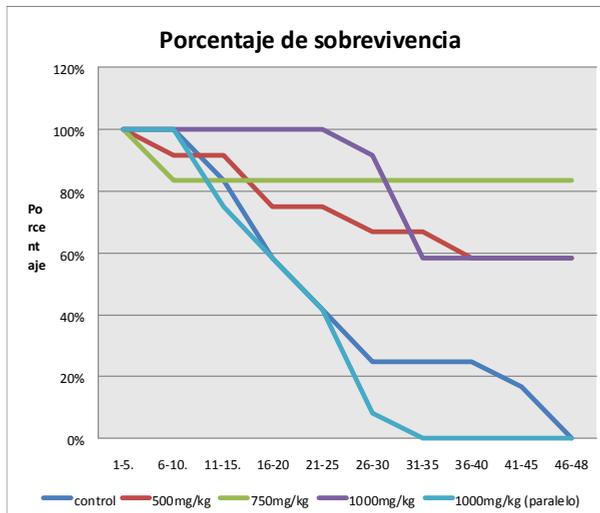


Gráfico 5. Supervivencia por acción del rocoto

Tabla 4
Hallazgos histopatológicos

DOSIS	DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO
500 mg/kg preventivo	<ul style="list-style-type: none"> - Hígado: micrometástasis de sarcoma indiferenciado en capsula hepática. - Estómago: peritonitis aguda. - Riñón: micrometástasis de sarcoma indiferenciado en grasa perirrenal y capsula renal.
750 mg/kg preventivo	<ul style="list-style-type: none"> - Hígado: sin alteraciones histopatológicas significativas. - Estómago: sin alteraciones histopatológicas significativas. - Riñón: sin alteraciones histopatológicas significativas. - Ganglio linfático: hiperplasia folicular reactiva ganglionar.
1000 mg/kg preventivo	<ul style="list-style-type: none"> - Pared abdominal: sarcoma indiferenciado infiltrante en pared abdominal. - Hígado: hepatitis crónica moderada inactiva. - Estómago: peritonitis aguda. - Riñón: sin alteraciones histopatológicas significativas.
1000 mg/kg paralelo	<ul style="list-style-type: none"> - Tumor: sarcoma indiferenciado infiltrante de pared abdominal. - Tracto gastrointestinal: sarcoma indiferenciado infiltrante gástrico. - Intestino delgado y grueso sin presencia de neoplasia. - Cerebro: sin alteraciones histopatológicas significativas. - Riñón: micrometástasis de sarcoma indiferenciado.
Control	<ul style="list-style-type: none"> - Tumor: sarcoma indiferenciado infiltrante metastásico en pared abdominal e intestino grueso. - Páncreas: sarcoma indiferenciado infiltrante metastásico.

Discusión

Nuestros resultados indican que los extractos acuoso y etanólico de rocoto, presentaron un marcado efecto protector de la mucosa gástrica sobre las lesiones producidas por indometacina, como podemos apreciar en la gráfica 1; estos efectos son superiores a los mostrados por la ranitidina, fármaco bloqueador de los receptores H_2 de la histamina, ampliamente utilizado en el tratamiento de la úlcera péptica; la evaluación estadística, tanto con la prueba de ANOVA de una cola como con la prueba de Turkey, evidenció resultados altamente significativos. Igualmente, los resultados indican que el extracto acuoso presentó un mayor efecto que el extracto etanólico, aunque, en este caso las diferencias no fueron significativas; en uno y otro caso el efecto estuvo relacionado a la dosis. Estos resultados concuerdan con los trabajos experimentales de otros autores, quienes demostraron que la administración intragástrica de capsaicina, en pequeñas dosis, protegían la mucosa gástrica de ratas, de las lesiones producidas por diferentes agentes injuriantes; en tanto que altas concentraciones de desensibilización local de capsaicina o dosis sistémicas neurotóxicas, incrementan, marcadamente la sensibilidad de la mucosa gástrica de la rata a posteriores noxas.¹³ Se sabe que un análogo de la capsaicina, la Resiniferatoxina, posee un efecto protector de la mucosa gástrica.¹³ No es objetivo del presente trabajo dilucidar el mecanismo por el cual el rocoto es capaz de ejercer efecto protector de la mucosa gástrica; sin embargo, debemos consignar que se ha descrito que la capsaicina, metabolito secundario más importante del rocoto, disminuye la producción ácida del estómago, aumenta la circulación y estabiliza la membrana celular de la mucosa gástrica, ejerciendo un efecto protector beneficioso.¹³

Otros estudios han demostrado efectos antiinflamatorios, antioxidantes, inmunoprotectores y antitumoral en cáncer gástrico y de colon, en razón de que la capsaicina es capaz de inhibir la activación del factor NF-KB, potente factor pro-inflamatorio² y de la vía IL6/STAT3, por depleción intracelular del pool gp130.²⁹

En nuestro estudio, el rocoto, mostró un claro efecto antitumoral, frente al sarcoma-180; prolongó el tiempo de supervivencia de los animales de experimentación, redujo las metástasis tumorales y redujo la producción de

líquido ascítico. Existen estudios que reportan que la capsaicina ejerce efecto beneficioso frente al cáncer gástrico y colon; reduce la angiogénesis, reduce la fijación de la aflatoxina al DNA e incrementa la capacidad inmunológica en pollos.^{22, 30, 31, 32, 33}

Podemos afirmar que el rocoto, en sus diferentes extractos, presenta efectos beneficiosos que podrían constituir una alternativa en el tratamiento de patologías tan frecuentes, en el hombre, como úlcera gástrica, tanto por reducir los factores agresores en la fisiopatogenia de la úlcera, como acidez gástrica y su actividad antimicrobiana,^{14, 15, 34} incluyendo el *helicobacter pylori*, y relacionado no solo con la úlcera y la gastritis, sino también con el cáncer gástrico, además de fortalecer los factores defensivos del estómago como mejorar la vascularización de la mucosa, estabilizar la membrana celular y estimular la producción de moco gástrico. Creemos que el siguiente paso debería ser la evaluación clínica de los posibles efectos beneficiosos del rocoto, ya que, además, ha demostrado ser no tóxico, según los criterios de Williams para evaluar la toxicidad de las plantas.

Conclusiones

El presente trabajo nos permite concluir que:

1. Los extractos acuoso y etanólico de *Capsicum pubescens* «rocoto», mostraron un excelente efecto gastroprotector frente a las lesiones producidas por indometacina, tres veces superior a la ranitidina.
2. El extracto metanólico de *Capsicum pubescens* «rocoto», presentó efecto antitumoral frente al sarcoma-180, en ratas.
3. Según los criterios de Williams, el *Capsicum pubescens* «rocoto», es no tóxico.
4. En el tamizado fitoquímico, en todos los extractos predominaron los alcaloides.

Referencias

- 1.- Gerardo Fernández Barbero. Extracción, Análisis, Estabilidad y Síntesis de Capsaicinoides. Tesis Doctoral, Universidad de Cáliz, Cáliz, Julio 2007.
- 2.- R. Sancho, C. Lucena, A. Macho, M. A. Calzado, M. Blanco-Molina, A. Minassi, G. Appendino, E. Muñoz. «*Immunosuppressive activity of capsaicinoids: capsiate derived from sweet peeppers inhibits NF-κB activation and is a potent antiinflammatory compound in vivo*». European Journal of Immunology, 32: 1753-1763, 2002.
- 3.- Galarza Manyari Carlos. «o de la nauralgia pos herpética». Hospital Nacional Dos de Mayo. Marzo 2003-Febrero 2004, Dermatol. Peru. Vol. N° 2. Lima Mayo/Agosto, 2005
- 4.- Yi-Ching Lo, Yuan-Chieh Yang. «Capsaicin-induced cell death in a human gastric adenocarcinoma cell line». *World J Gastroenterol* 2005; 11(40):6254-6257.
- 5.- J. Jurenitsch, W. Kubelka, K. Jentzsch. «*Identification of cultivated Taxa of Capsicum taxonomy, anatomy and composition of pungent principles*». *Planta Medica*, 35(2): 174-181, 1979.
- 6.- V. S. Govindarajan. «*Capsicum production, technology, and quality. Part II. Processed product, Standard, world production and trade*». *Critical Review of Food Science and Nutrition*, 24: 207-288, 19
- 7.- F. Márkus, H. G. Dado, J. Kapitány, P. A. Biacs. «*Change in the carotenoid and antioxidant content of spice red pepper (Paprika) as a function of ripening and some technological factors*». *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47 (1): 100-107, 1999.
- 8.- O. C. Zúñiga, F. G. Jiménez, R. M. Gordillo. «*Comparative estudy of carotenoid composition in three Mexican varieties of Capsicum annum L.*». *Food Chemistry*, 90: 109-114, 2005.
- 9.- L. R. Howard, S. T. Talcott, C. H. Brenes, B. Villalon. «*Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected peeper cultivars (capsicum species) as influenced by maturity*». *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5): 1713-1720, 2000.
- 10.- O.M.E. Abdel-Salam, J. Szolcsányi, G. Mózsik. «*Capsaicin and the stomach. A review of experimental and clinical data*». *Journal of Physiology-Paris*, 91: 151-171, 1997.
- 11.- () Pedro Montes Teves*; Sonia Salazar Ventura*; Eduardo Monge Salgado. Cambios en la pidemiología de la Úlcera Péptica y su Relación con la Infección con Helicobacter Pylori. Hospital Daniel Carrion 2000-2005. *Rev. Gastroenterol Perú*; 2007; 27: 382-388
- 12.- Carlos Enrique Ichiyanaqui Rodríguez. Epidemiología de la hemorragia digestiva. *Acta Méd. Per.* 23(3) 2006
- 13.- Abdel Salam, O. M. E., Szolcsanyi, J., Mozsik, G., 1997: Capsaicin and the stomach A review of experimental and clinical data. *Journal Of Physiology Paris.* 91(3-5): 151-171.
- 14.- Pedro Montes Tévez, Sonia Salazar Ventura, Eduardo Monge Salgado. Cambios en la epidemiología de la Úlcera Péptica y su relación con la infección con Helicobacter pylori. Hospital Daniel Carrión 2002-2005. *Rev. GastroenterologíaPewrú*; 2007, 27: 382-388
- 15.- Fadile Yıldız Zeirek, ElifOguz. In vitro activity of capsaicin against Helicobacter pylori. *Annals of Microbiology*, 55(2) 125-127 (2005).
- 16.- Cichewicz, R., Thorpe, P. «*The antimicrobial properties of chile peppers*». Extracción, purificación y cuantificación de capsaicinoides de *capsicum pubescens* Ruiz & Pavón (rocoto). Sección Química, Pontificia Universidad Católica del Perú.
- 17.- H. Salazar, A. Jara-Oseguera, T. Rosenbaum a. El canal TRPV1 como diana para tratar el dolor, *REV NEUROL* 2009; 48 (7): 357-364
- 18.- PAIN CLINICAL UPDATES. Identificación y tratamiento del dolor neuropático en pacientes con cáncer. Volumen 20, N° 2, Marzo 2012.

- 19.- M. A. Vidal, E. Calderón, D. Román, F. Pérez-Bustamante y L. M. Torres. Capsaicina tópica en el tratamiento del dolor neuropático. *Rev. Soc. Esp. Dolor* 11: 306-318, 2004.
- 20.- Denisse Champín Michelena. Dolor neuropático. *Rev. Soc. Per. Med. Inter.* 18(2) 2005.
- 21.- Kim JD, Kim JM, Pyo JO, Kim SY, Kim BS, Yu R, Han IS. «Capsaicin can alter the expression of tumor forming-related genes which might be followed by induction of apoptosis of a Korean stomach cancer cell line, SNU-1». *Cancer Lett* 1997; 120:235-241).
- 22.- K. M. Yang, JO Pyo, GY Kim, R. Yu. «Capsaicin induces apoptosis by generating reactive oxygen species and disrupting mitochondrial transmembrane potential in human colon cancer cell lines». *Cell Mol Biol Lett* (2009).
- 23.- Beltran J, Ghosh A. K., Basu S. Immunotherapy of tumors with neuroimmune ligand capsaicin. *J. Immunol.* 2007 Mar 1; 178(5): 3260-4.
- 24.- Jeong-Ki Min, Kyu-Yeon Han, Eok-Cheon Kim, Young-Myeong Kim, Sae-Won Lee, Ok-Hee Kim³, Kyu-Won Kim⁵, Yong Song Gho and Young-Guen Kwon. Capsaicin Inhibits in Vitro and in Vivo Angiogenesis [*Cancer Research* 64, 644-651, January 15, 200.
- 25.- CIMS, ICLAS. INTERNATIONAL GUIDING PRINCIPLES FOR BIOMEDICAL RESEARCH INVOLVING ANIMALS. December 2012.
- 26.- Declaración universal de los derechos del animal, en WWW.FUNDACION-AFFINITY.ORG
- 27.- Conquist A. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. New York: Columbia University Press; 1981.
- 28.- Ciulei I. Methodology for Analysis of Vegetable Drugs on the Industrial Utilization of Medicinal and Aromatic Plants. Bucharest, Romania. Bucharest Office UNIDO; 1982.
- 29.- Hyun KyungLee^a, In Ae Seo. «Capsaicin inhibits the IL-6/STAT3 pathway by depleting intracellular gp130 pools through endoplasmic reticulum stress». *Biochemical and biophysical research communications.* 2009, Vol. 382, N° 2, pp. 445-450.
- 30.- Teel, R.W. (1991) «Effects of capsaicin on rat liver S9-mediated metabolism and DNA binding of aflatoxin». *Nutr. Cancer*, 15, 27–32.
- 31.- Fernando Sanabria-Naranjo*, MVZ, Esp.1, Mauricio Mendoza-García, Ing. Agroindustrial, Ph.D. Efecto de la suplementación de capsaicina como estimulante inmunológico en pollos Ross. *SpeiDomus / Volumen 9, Número 18 / enero - junio 2013.*
- 32.- Felipe Vázquez-Flota*, María de Lourdes Miranda-Ham, Miriam Monforte-González, Guadalupe Gutiérrez-Carbajal, Cinthya Velázquez-García y Yuriana Nieto-Pelayo. LA BIOSÍNTESIS DE CAPSAICINOIDES, EL PRINCIPIO PICANTE DEL CHILE, *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 30 (4): 353-360, 2007.
- 33.- Juan Carlos Cedrón. La capsaicina. *Revista de Química PUCP*, 2013, Vol. 27, N° 1-2.
- 34.- R. H. Cichewicz, P. A. Thorpe. «The antimicrobial properties of chile peppers (*Capsicum species*) and their uses in Mayan 16.- medicine». *Journal of Ethnopharmacology*, 52: 61-70, 1996.

* Director del Instituto de Investigación, FMH-USMP

** Profesor investigador, FMH- USMP

Agradecimientos

Agradecemos a los alumnos de Farmacología que participaron en la realización del presente trabajo como parte de su formación profesional, en los aspectos de investigación.