



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

00570
7
2e/

FACULTAD DE QUIMICA

"VALORACION FARMACOLOGICA DE LA ACTIVIDAD GASTROPROTECTORA DE LOS CONSTITUYENTES DE *Hippocratea excelsa*. HBK."

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRIA EN CIENCIAS QUIMICAS

(QUIMICA-FARMACEUTICA)

P R E S E N T A :

Q.F.B. JOSE LUIS TREJO MIRANDA



MEXICO, D. F.

1998.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

267246



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

Presidente	Dr. Mariano Martínez Vázquez
Vocal	Dr. Víctor Manuel Pérez Alvarez
Secretario	Dra. Isabel Aguilar Laurents
Primer Suplente	Dr. Francisco Javier Larios Medina
Segundo Suplente	Dra. Perla Carolina Castañeda López

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio de Farmacología, Conjunto "E" de la Facultad de Química y L-6, Unidad de Investigación de Plantas Medicinales de la Facultad de Química y el Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Asesor



Dr. Andrés Navarrete Castro

Sustentante



Q. F. B. José Luis Trejo Miranda

DEDICATORIAS

A mis padres Martín y Virginia, quienes han hecho de mí una persona de provecho. Para ustedes, todo mi amor y agradecimiento.

A mis hermanos, Martín, Rocío, Claudia y Pedro. Gracias a todos por su amistad, su apoyo y sobre todo, su cariño.

A mi abuelita Mercedes, a la que más quiero en el mundo.

Alicia: tu amor y apoyo han permitido que logre todas mis metas.

A mis Padrinos José Luis y María Teresa, por ser un modelo a seguir.

A todos mis primos que tanto aprecio, gracias por su amistad.

A mis amigos Samuel, Zenón, Alejandro, Fausto, Daniel, y a la Checha, gracias por ser tan buenos amigos, difícilmente podría haber encontrado mejores.

A Susana y Martha por ser siempre tan buenas amigas.

A mis amigos y compañeros de la Maestría: Pilar, Hugo, Maricruz, Mini, Bernice y Adriana

A todos los amigos del laboratorio 124 y 126 del Conjunto II de la Facultad de Química de la UNAM.

A todos los profesores de la Maestría, gracias por sus regaños, pero sobre todo por sus conocimientos y amistad.

Con especial cariño a la Dra. Rachel Mata Essayag y al Dr. Andrés Navarrete Castro, quienes en todo momento me brindaron incondicionalmente su apoyo, y que compartieron conmigo su tiempo y sus conocimientos.

Especialmente a la Universidad Nacional Autónoma de México, por permitirme ser parte de ella, y por ser mi segunda casa.

CONTENIDO

RESUMEN.....	I
ABSTRACT.....	II
LISTA DE CUADROS.....	III
LISTA DE DIAGRAMAS.....	III
LISTA DE FIGURAS.....	IV
LISTA DE TABLAS.....	IV
LISTA DE ABREVIATURAS.....	V
AGRADECIMIENTOS.....	VI

I. INTRODUCCION

	Página
1 Antecedentes botánicos y etnobotánicos de <i>Hippocratea excelsa</i>	1
1.1 Estudios químicos sobre <i>Hippocratea excelsa</i> HBK.....	3
1.2 Estudios biológicos sobre <i>Hippocratea excelsa</i> HBK.....	4
1.3 Fundamento teórico sobre úlcera péptica.....	4
1.3.1 Patogenia.....	9
1.3.2 Factores de defensa de la mucosa gastroduodenal.....	10
1.3.3 Mecanismos de protección de la mucosa gastroduodenal.....	11
1.3.4 Factores agresivos para la mucosa gastroduodenal.....	12
1.4 Fármacos empleados en la terapéutica de la úlcera péptica.....	14
1.4.1 Antiácidos.....	14
1.4.2 Antisecretores.....	14
1.4.2.1 Antimuscarínicos.....	15
1.4.2.2 Antagonista de los receptores H ₂	15
1.4.2.3 Inhibidores de la ATPasa H ⁺ /K ⁺	17
1.4.2.4 Antagonistas de la gastrina.....	17
1.4.3 Citoprotectores.....	18
1.4.3.1 Sucralfato.....	19
1.4.3.2 Compuestos de bismuto.....	20
1.4.3.3 Carbenoxolona.....	20

1.4.3.4 Prostaglandinas.....	21
1.4.4 Citoprotección independiente de prostaglandinas.....	21
1.4.4.1 Sulglicótido.....	22
1.4.4.2 Alginato.....	23
1.5 Inducción de úlcera con etanol.....	24
1.6 Plantas medicinales mexicanas con efecto antiulceroso.....	24
1.7 Principios activos de plantas con actividad antiulcerosa.....	25
II. JUSTIFICACION	30
III. OBJETIVOS.....	31
3. Objetivo general	31
3.1 Objetivos particulares.....	31
IV. MATERIALES Y METODOS.....	32
4. Procedimientos generales.....	32
4.1 Separación cromatográfica.....	32
4.2 Caracterización de los productos naturales y sus derivados.....	33
4.3 Preparación de los derivados de los compuestos aislados.....	33
4.3.1 Obtención de los derivados metilados.....	33
4.3.2 Obtención de los derivados acetilados.....	34
4.4 Determinación de la actividad gastroprotectora.....	34
4.4.1 Animales de laboratorio.....	34
4.4.2 Fármacos y dosificación.....	34
4.4.3 Protección contra la úlcera inducida por etanol.....	35
4.5 Evaluación del efecto de la (-)epicatequina sobre la secreción gástrica	36
4.5.1 Análisis estadístico.....	36
4.6 Material vegetal.....	38
4.7 Extracción de la corteza de la raíz de <i>Hippocratea excelsa</i>	38
4.8 Fraccionamiento preliminar del extracto metanólico.....	40
4.8.1 Obtención del crudo alcaloideo de la fracción HE-B.....	41
4.9 Fraccionamiento secundario del extracto metanólico.....	41
V. RESULTADOS Y DISCUSION.....	42
5. Obtención de los compuestos gastroprotectores.....	42
VI. CONCLUSIONES.....	54
VII. PERSPECTIVAS.....	55
VIII. BIBLIOGRAFIA.....	56
IX. APENDICE.....	65

RESUMEN

Como parte de los estudios multidisciplinarios de la flora medicinal mexicana, se realizó la valoración farmacológica de la actividad gastroprotectora de los constituyentes aislados de la corteza de la raíz de *Hippocratea excelsa* (cancerina) empleando el modelo de inducción de úlcera gástrica con etanol.

El extracto metanólico de la corteza de la raíz de cancerina presentó una actividad gastroprotectora significativa. De este extracto activo se aislaron: La friedelina, el canofilol, el canofilal, la α y la β amirinas, el β -sitosterol, la (-)epicatequina y el β -D-glucositolsterol, a los cuales se les valoró su efecto gastroprotector así como a los derivados metilado y acetilado de la (-)epicatequina .

Los metabolitos β -D-glucositolsterol, β -sitosterol y (-)epicatequina fueron los que presentaron la mayor actividad gastroprotectora con 93.4, 85.67 y 72.1 % de protección respectivamente. También se evaluó la actividad inhibitoria de la secreción gástrica de la (-)epicatequina mediante el empleo del modelo de Shay, sin embargo este metabolito no inhibió la secreción gástrica, por lo que el mecanismo por el cual ejerce la gastroprotección no es el de inhibir la secreción ácido gástrica.

Los resultados obtenidos confirman que la *Hippocratea excelsa* posee un efecto gastroprotector sobre las lesiones en estómago, lo que justifica el uso de esta planta en la medicina tradicional mexicana.

ABSTRACT

The methanol extract of the root bark of *Hippocratea excelsa* (cancerina) showed an inhibitory effect on ethanol-induced gastric ulcer in rats. Fractionation of the methanol extract led to four active fractions. These fractions showed higher antiulcer activity than bismuth subsalicylate, used as the positive gastroprotective control drug.

β -D-glucositolsterol, β -sitosterol and (-)-epicatechin were isolated from the active fractions, and showed better antiulcer activity than the positive control.

(-)-Epicatechin showed to exert antiulcer activity. However, this compound did not modify the gastric secretion in Shay pyloric-ligated rats.

In view of these results, the gastroprotective properties demonstrated in the present study for the methanol extract, fractions and metabolites isolated from the root bark of *Hippocratea excelsa* provides additional support for the popular use of this plant as an antiulcer remedy in Mexican traditional medicine.

LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1 Metabolitos secundarios aislados de <i>Hippocratea excelsa</i> .	5
Cuadro 2 Sistemas de elución utilizados para los análisis cualitativos en capa fina	32
Cuadro 3 Agentes cromógenos utilizados para los análisis cromatográficos en capa fina	33
Cuadro 4 Fraccionamiento preliminar por cromatografía en columna abierta del extracto crudo de la corteza de la raíz de <i>Hippocratea excelsa</i>	40
Cuadro 5 Metabolitos secundarios aislados de la especie <i>Hippocratea Excelsa</i>	48

LISTA DE DIAGRAMAS

Diagrama 1 Ensayo biológico para determinar la actividad gastroprotectora	37
Diagrama 2 Proceso de extracción de la corteza de la raíz de <i>Hippocratea excelsa</i>	39

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	meabolitos aislados de plantas con actividad antiulcerosa	51
-----------------	--	-----------

LISTA DE TABLAS

Tabla 1	Especies mexicanas del género Hippocratea	2
Tabla 2	Plantas medicinales utilizadas como antiulcerosas que cuentan con algún estudio farmacológico	26
Tabla 3	Principios activos de plantas con actividad antiulcerosa	28
Tabla 4	Actividad gastroprotectora de fracciones y metabolitos de la corteza de la raíz de cancerina	44
Tabla 5	Efecto de la (-)epicatequina sobre la inhibición de la secreción gástrica	53

LISTA DE ABREVIATURAS

[α]	Rotación óptica
AcOEt	Acetato de etilo
$^{\circ}\text{C}$	Grado centígrado
CDCl_3	Cloroformo deuterado
CH_2Cl_2	Diclorometano
CHCl_3	Cloroformo
cm	Centímetro
d	Doblete
dd	Doblete dobleteado
ddd	Doble de doble de doble
δ	Desplazamiento químico
g	Gramo
HCl	Acido clorhídrico
Hex	Hexano
Hz	Hertz
IR	Infra Rojo
IUC	Índice de ulceración del control
IUP	Índice de ulceración del tratamiento de prueba
J	Constante de acoplamiento
KBr	Bromuro de potasio
m	Multiplete
MeOH	Metanol
mg	Miligramo
ml	Mililitro
mm	Milímetro
μg	Microgramo
NH_4OH	Hidróxido de amonio
NaOH	Hidróxido de sodio
p.f.	Punto de fusión
RMN^1H	Resonancia magnética nuclear protónica
RMN^{13}C	Resonancia magnética nuclear de carbono
s	Singulete
T	Triplete
TMS	Tetra-metil-silano

AGRADECIMIENTOS

De manera especial, expreso mi agradecimiento al Dr. Andrés Navarrete Castro de la Facultad de Química de la UNAM, por su invaluable dirección en el presente trabajo.

A la Dra. Rachel Mata Essayag de la Facultad de Química de la UNAM, por los invaluable consejos en el presente trabajo y a lo largo de mi formación académica.

El trabajo experimental de esta tesis se realizó mediante el apoyo económico otorgado a través de los proyectos DGAPA (Dirección General de Asuntos de Personal Académico). IN22198 e IN205197.

A las M. En C. Isabel Chávez y Beatriz Quiroz de los laboratorios de RMN del Instituto de Química de la UNAM, por los registros de los espectros de RMN.

A la Q. F. B. Rocío Patiño del laboratorio de Espectroscopía de IR del Instituto de Química de la UNAM, por los registros de IR y rotación óptica.

Al laboratorio de Farmacología del Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM por facilitar sus instalaciones para realizar las pruebas biológicas.

De manera muy especial agradezco a los miembros del jurado revisor sus valiosos comentarios que mejoraron la versión final de esta tesis.

Al CONACYT por la beca otorgada para la realización de mis estudios de Maestría en Ciencias Químicas (Química-Farmacéutica)

I. INTRODUCCION

1. ANTECEDENTES BOTANICOS Y ETNOBOTANICOS DE *Hippocratea excelsa* HBK.

Hippocratea excelsa HBK (Sin: *Hemiangium excelsum* HBK) es una planta de la familia Hippocrateacea que según Smith, comprende 115 especies distribuidas en el Sudeste de los Estados Unidos, México y en la zona tropical de Sudamérica (Smith, 1940).

En México, el género *Hippocratea* es particularmente abundante; se conocen doce especies (Tabla 1) y la más popular de todas es *H. excelsa* (Smith, 1940). La especie *Hippocratea excelsa* tiene varios nombres vulgares los cuales son asignados en función de la zona en la cual se localiza. Estos son: Barajilla, Fruta de rosa, Aguatcui, Mata piojo (Oaxaca), Palo de piojo, Piojo, Palo de reguilete, Atzultó (lengua tzeltal, el real Chiapas), Chumloop, Salbeets (Lengua maya, Yucatán) y Zaccuche (Maya).

Hippocratea excelsa es un bejuco leñoso delgado de hasta 17 metros de largo, el tallo es de 10 cm de diámetro, de ramitas pecioladas, en los más jóvenes, inflorescencias puberulentas con obvios tomentulos pálidos; hojas sobre peciolo de 5-15 mm de longitud, escamosamente carnosas, oblongoelípticas o estrechamente abovadas, 6-12 cm de longitud, en el ápice usualmente redondeadas, obtuso o escasamente redondeado en la base, obscuramente crenulado o crenado-serrado; inflorescencias de 1.5-6 cm de largo a veces floreado. Las flores de 6-10 mm de ancho; sépalos regularmente puberulentos,

Tabla 1. Especies mexicanas del género *Hippocratea*.

Nombre científico	Distribución	Nombre común
<i>Hippocratea excelsa</i> HBK	Guerrero, Puebla, Durango	Cancerina, matapiojo
<i>Hippocratea utilis</i> Rose	Sinaloa	Bejuco corolado
<i>Hippocratea meizantha</i> Blake	Veracruz, Morelos	
<i>Hippocratea elliptica</i> HBK	Guerrero	
<i>Hippocratea rovirosaes</i> Standl	Tabasco	
<i>Hippocratea pauciflora</i> Rose	Tamaulipas, Sinaloa	Matapiojo, hierba del piojo
<i>Hippocratea acapulcensis</i> HBK	Guerrero	Bejuco de piojo, pepitas de piojo
<i>Hippocratea tabascensis</i> Lundell	Tabasco	Barajilla
<i>Hippocratea mexicana</i> Miers	Guerrero, Mazatlán, Oaxaca.	Matapiojo
<i>Hippocratea seleariana</i> Loes	Morelos	Matapiojo
<i>Hippocratea chiapanensis</i> Standl	Chiapas	Matapiojo
<i>Hippocratea yucatanensis</i> Standl	Yucatán	Matapiojo

obovados-dentados a semiorbiculares de 1-1.5 mm de longitud, subagudos o redondeados en el ápice, pétalos glabros, oblongo u oblongo-elípticos 3-5 mm de longitud, redondos u obtusos en el ápice entero; disco largo y conspicuo; cápsulas elípticas o anchamente obovadas de 4.5-6 cm de longitud, emarginados en el ápice, ovoide, de 7-10 mm de longitud, el ala obovado-elíptico, cerca de 3.5 cm de longitud y 1.5 cm de ancho (Smith, 1940; Standley y Steyermark, 1949).

En la República Mexicana la planta se encuentra distribuida en Durango: cerca de Huasemoto; Temascaltepec, Estado de México; Guerrero; Oaxaca: cerca de Tehuantepec y cerca de Yautepec; San Vicente, Chiapas; y Yucatán (Smith, 1940; Standley y Steyermark, 1949).

La corteza café rojiza de la *H. excelsa* se utiliza en la medicina tradicional en el tratamiento de varias enfermedades entre las que destacan, las afecciones de la piel, úlceras gástricas, padecimientos renales, amenorrea e infecciones uterinas. De manera adicional, las semillas y las hojas se utilizan en el tratamiento de la infestación por piojos y otros ectoparasitos.

1.1 ESTUDIOS QUIMICOS SOBRE *Hippocratea excelsa* HBK.

Desde el punto de vista fitoquímico, la especie *H. excelsa* ha sido objeto de varios estudios químicos. De tal forma que de la corteza de la raíz y del tallo se han aislado varios triterpenoides: friedelina, canofilol, canofilal, ácido canofílico, tingenona, pristimerina, excelsina y celastrol (Calzada *et al.*, 1991).

También se ha determinado un alto contenido de *transpoliisopreno* (Palacios *et al.*, 1989).

Se ha logrado separar del extracto metanólico de la corteza de la raíz cuatro alcaloides sesquiterpénicos: emarginatina A y las hipocrateínas I, II y III (Mata *et al.*, 1993; Calzada *et al.*, 1995).

En el Cuadro 1 se ilustran las estructuras de los compuestos aislados de *Hippocratea excelsa*.

1.2 ESTUDIOS BIOLÓGICOS SOBRE *Hippocratea excelsa* HBK.

Desde el punto de vista biológico, el extracto metanólico de la cancerina ha mostrado tener una considerable actividad gastroprotectora en los modelos de inducción de la úlcera gástrica con etanol en ratas (Sánchez, 1991). También se han realizado estudios en los que reportan que el extracto etanólico ejerce una considerable actividad antiinflamatoria en varios modelos animales (Pérez *et al.*, 1995).

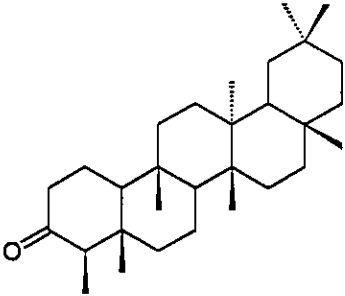
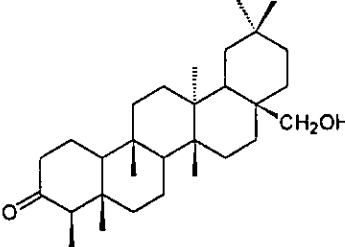
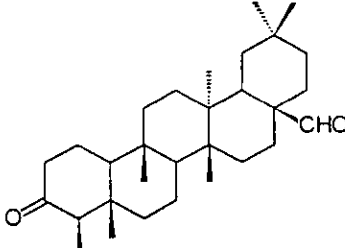
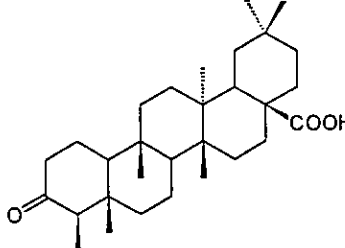
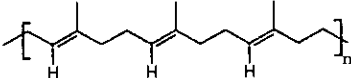
1.3. FUNDAMENTO TEÓRICO SOBRE ULCERA PEPTICA

ULCERA

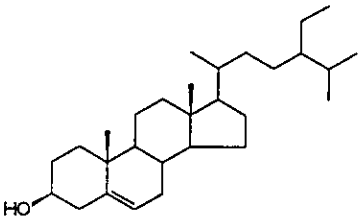
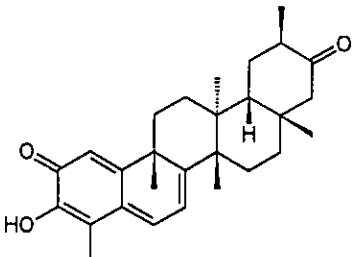
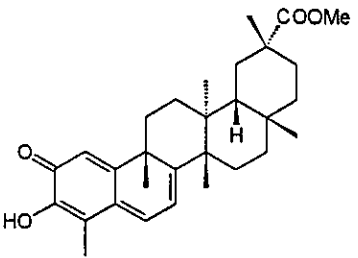
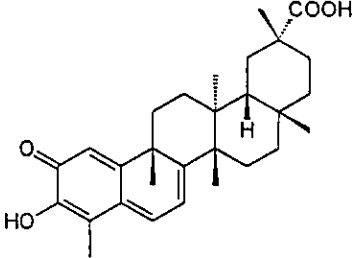
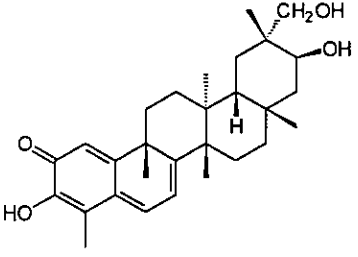
Por definición, la úlcera es una lesión de aquellas partes de aparato digestivo que están en contacto con el jugo gástrico (Villalobos, 1985). Se ha propuesto que en la patogenia de la úlcera péptica existe un desequilibrio entre la secreción de ácido clorhídrico y pepsina por el estómago y la capacidad de la mucosa gastrointestinal para resistir la digestión péptica (Carter, 1982), es decir, que la úlcera se forma cuando la agresión sobre la mucosa es más poderosa que su defensa.

La úlcera es una discontinuidad de la mucosa epitelial que interesa hasta la *Muscularis mucosae*, en las partes del tubo digestivo expuesto al jugo gástrico.

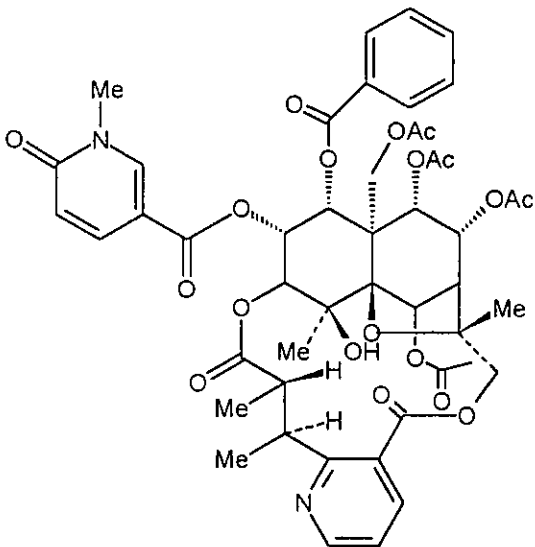
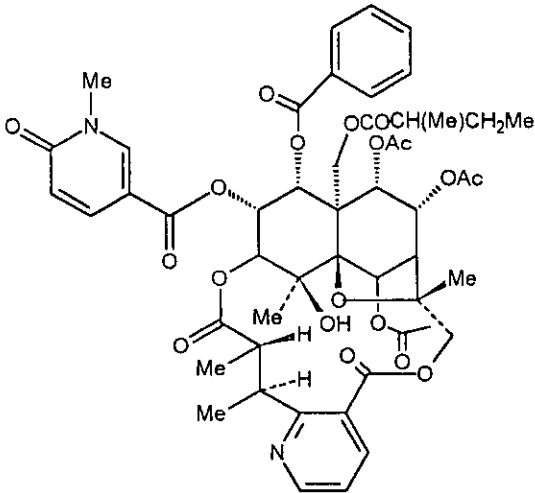
Cuadro 1. Metabolitos secundarios aislados de *Hippocratea excelsa*.

Compuesto	Referencia
 <p data-bbox="394 560 529 594">friedelina</p>	<p data-bbox="891 243 1198 277">Calzada, <i>et al.</i>, 1991.</p>
 <p data-bbox="401 874 522 909">canofilol</p>	<p data-bbox="891 605 1198 639">Calzada, <i>et al.</i>, 1991.</p>
 <p data-bbox="405 1193 518 1228">canofilal</p>	<p data-bbox="891 917 1198 952">Calzada, <i>et al.</i>, 1991.</p>
 <p data-bbox="355 1508 580 1543">ácido canofilico</p>	<p data-bbox="891 1238 1198 1273">Calzada, <i>et al.</i>, 1991.</p>
 <p data-bbox="337 1651 599 1686"><i>trans</i>-poliisopreno</p>	<p data-bbox="891 1551 1202 1586">Palacios, <i>et al.</i>, 1989.</p>

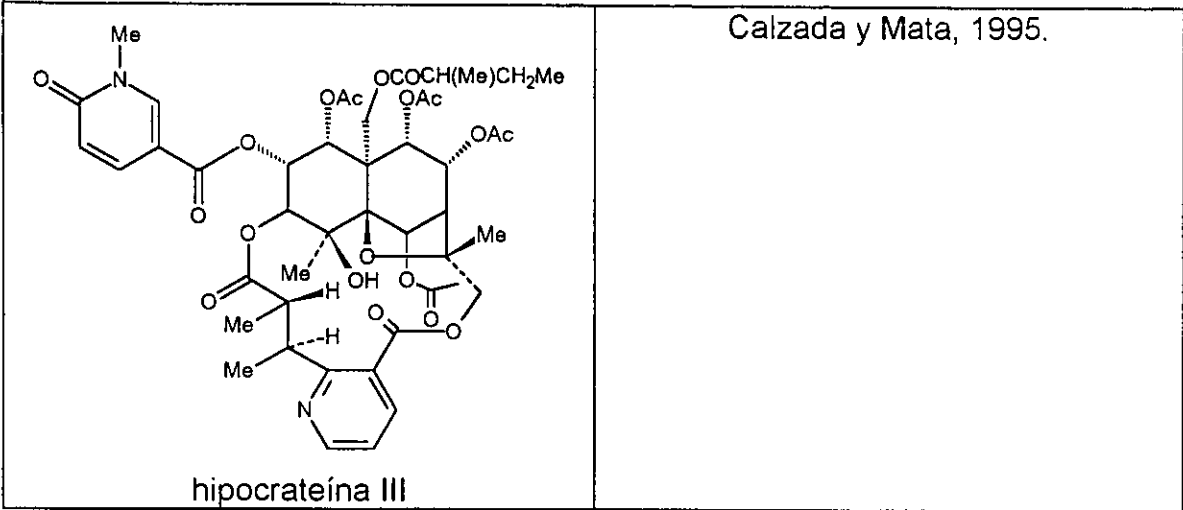
Cuadro 1 (continuación)

 <p>β-sitosterol</p>	<p>Calzada, <i>et al.</i>, 1991.</p>
 <p>tingenona</p>	<p>Calzada, <i>et al.</i>, 1991.</p>
 <p>pristimerina</p>	<p>Calzada, <i>et al.</i>, 1991.</p>
 <p>celastrol</p>	<p>Calzada, <i>et al.</i>, 1991.</p>
 <p>excelsina</p>	<p>Calzada, <i>et al.</i>, 1991.</p>

Cuadro1 (continuación)

 <p>hipocrateína I</p>	<p>Mata, <i>et al.</i>, 1993.</p>
 <p>hipocrateína II</p>	<p>Mata, <i>et al.</i>, 1993.</p>

Cuadro1 (continuación)



hipocrateína III

En tanto, las alteraciones restringidas sólo a la mucosa se denominan erosiones (Guth, 1973).

La úlcera péptica ocurre en la región pilórica del estómago o en los primeros centímetros del intestino delgado (duodeno). La mucosa gastroduodenal está expuesta constantemente a numerosas agresiones de tipo mecánico, físico y químico. Una úlcera péptica no se desarrolla sin la presencia de jugo gástrico, el cual contiene pepsina a un pH bajo (Rama, 1996).

1.3.1 PATOGENIA

La ingestión de los alimentos provoca una secuencia de procesos neuro-endocrinos que se originan desde el pensamiento, la vista y el olfato, y si el centro de la saciedad está receptivo, activa la liberación de acetilcolina estimulando las células parietales del estómago para producir ácido clorhídrico y pepsina. El alimento al llegar al estómago distiende el antro gástrico y al crear un medio más alcalino, estimula la liberación de gastrina por las células "G". El aumento de la gastrina circulante estimula los receptores de membrana de las células parietales y se activa así la producción de ácido clorhídrico.

Cuando el pH intragástrico se reduce a menos de 3, el contenido de ácido gástrico inhibe la liberación de gastrina. La subsecuente acidificación de la primera porción del duodeno estimula la liberación de secretina por las células "S" y de otras hormonas como la colecistoquinina, el polipéptido gástrico inhibidor, el glucagón y la bulbogastrona, las cuales a su vez inhiben la secreción ácida del

estómago. La secretina estimula la secreción de bicarbonato alcalino por el páncreas lo que tiende a neutralizar el ácido que originó la respuesta duodenal.

Existen varias complicaciones de la úlcera péptica, en su crecimiento erosiona vasos sanguíneos causando hemorragia, causa perforación de la pared intestinal penetrando en órganos vecinos o creando una perforación libre en la cavidad peritoneal. En las úlceras no complicadas casi siempre hay actividad regeneradora, que en cualquier momento puede lograr la curación de la úlcera, especialmente si ésta se protege del jugo gástrico.

La mayoría de las úlceras se presentan a lo largo de la curvatura menor del estómago y en la porción inicial del duodeno (Sodeman y Sodeman, 1984).

La presencia de un reflujo duodenogástrico excesivo y un incremento en la secreción de ácidos biliares dentro del contenido gástrico también son características de los pacientes con úlcera gástrica (Sodeman y Sodeman, 1984; Smith y Thier 1989; Valadez, 1989).

El daño de la mucosa gástrica o la resistencia que la misma presente a dicho daño, deriva de la interacción o balance entre factores agresivos y factores de defensa del estómago o duodeno. El desequilibrio de un mecanismo de defensa ante el de un factor agresivo tiene como consecuencia una enfermedad gástrica (Glavin y Szabo, 1992).

1.3.2 FACTORES DE DEFENSA DE LA MUCOSA GASTRODUODENAL

Los mecanismos de defensa de la mucosa gastroduodenal son representados por factores tales como: moco y secreción de bicarbonato, las cuales son el resultado

de una compleja interacción entre prostaglandinas, interleucinas, flujo sanguíneo, dopamina, óxido nítrico y otros factores (Robert *et al.*, 1979; Glavin y Szabo, 1992).

Es posible que el óxido nítrico involucrado en estos mecanismos no provenga del endotelio, sino de nervios nitrérgicos que se encuentran en la pared gástrica y a lo largo de todo el intestino.

El moco gástrico es una barrera defensiva contra elementos potencialmente dañinos, éste presenta las siguientes propiedades: firme adherencia al epitelio, impermeabilidad general a diversos agentes químicos, poco permeable a la pepsina, propiedades de adsorción y acción amortiguadora debida a la presencia del bicarbonato.

1.3.3 MECANISMOS DE PROTECCION DE LA MUCOSA GASTRODUODENAL

La mucosa gastroduodenal está expuesta constantemente a numerosas agresiones de tipo mecánico, físico y químico, por lo que para mantener su integridad emplea numerosos mecanismos de protección (Rama, 1996), entre los cuales se encuentran:

a) "Barrera Mucosa-Bicarbonato" constituida por una capa delgada de gel de moco adherido al epitelio gástrico y por iones bicarbonato secretados por las mismas células epiteliales permitiendo de esta manera la neutralización de los iones H^+ (Carter, 1981).

b) Hidrofobicidad de superficie, debida a una capa activa de fosfolípidos adsorbidos directamente sobre la membrana de células epiteliales de la mucosa gástrica. Investigaciones previas han demostrado la existencia de un recubrimiento oligolaminar consistente de 8 bicapas de fosfolípidos sobre la mucosa gástrica. La ausencia de este revestimiento convierte a una mucosa hidrofílica lo que favorece el desarrollo de la úlcera (Ress, 1991).

c) Las prostaglandinas son factores de protección de la mucosa gastroduodenal. Dentro de las prostaglandinas endógenas están las PGE_2 , $PGF_{2\alpha}$ y PGI_2 y las sintéticas (misoprostol) que estimulan la secreción de moco, secreción de bicarbonato y un incremento en el flujo de sangre en la mucosa.

d) El flujo de sangre de la mucosa contribuye en el transporte de oxígeno y nutrientes de las células epiteliales manteniendo de este modo la habilidad para resistir a la actividad agresiva del ácido y la pepsina. Cuando en el estómago se estimula la secreción de ácido, el flujo de sangre de la mucosa se incrementa. Por el contrario, una reducción en la acidez gástrica se acompaña usualmente por una reducción concomitante de flujo de sangre local (Braga, 1991).

1.3.4 FACTORES AGRESIVOS PARA LA MUCOSA GASTRODUODENAL

Los elementos causantes de daño celular son el ácido clorhídrico y la pepsina. La fase gástrica de la secreción está mediada por la secreción de gastrina de las células G presentes en las glándulas de la porción antral de la mucosa gástrica y

el bulbo duodenal en respuesta a la distensión por los alimentos líquidos, por la estimulación vagal y por la exposición a productos de la digestión proteínica (Ganong, 1992). Las acciones fisiológicas principales de la gastrina son la estimulación de la secreción gástrica de ácido y de pepsina, y la estimulación del crecimiento de la mucosa gástrica (Ganong 1986; Holzer y Samtez, 1986).

La estimulación de la secreción de ácido se ve afectada y acelerada por estímulos visuales, odoríferos, gustativos y la ingesta de alimento durante la fase cefálica del periodo de secreción digestiva (Rama, 1996). Otros factores que estimulan la secreción gástrica son las respuestas emocionales, los estados psíquicos y la hipoglucemia (Smith y Thier, 1989).

Tanto la úlcera gástrica como la duodenal, son más frecuentes en personas que fuman cigarrillos y tienen un alto consumo de alcohol y café. La úlcera gástrica parece predominar entre los consumidores habituales de antiinflamatorios no esteroideos como el ácido acetil salicílico, la indometacina y la fenilbutazona. Los antiinflamatorios no esteroideos predisponen a la úlcera péptica al disminuir la síntesis de prostaglandinas, posiblemente mediante la inhibición de la enzima COX1.

Otros factores agresivos para la mucosa gastroduodenal, son la presencia de proteasas, de radicales libres y de la bacteria *Helicobacter pylori*, recientemente implicada como un factor causal en gastritis antral y posiblemente también en ulcerogénesis gástrica y duodenal, ya que de casi todos los pacientes con gastritis y con úlcera duodenal, y del 80-90% de pacientes con úlceras gástricas tiene una infección por *H. pylori* en su antro gástrico (Glavin y Szabo, 1992).

1.4 FARMACOS EMPLEADOS EN LA TERAPEUTICA DE LA ULCERA PEPTICA.

Los fármacos empleados en la terapéutica de las úlceras pépticas se clasifican en tres grandes grupos: antiácidos, antisecretores y citoprotectores.

1.4.1 Antiácidos

Los antiácidos, son medicamentos que neutralizan el ácido clorhídrico secretado por las células parietales elevando el pH gástrico e impidiendo la activación del pepsinógeno. Su capacidad de neutralización depende principalmente de la composición química, la dosis y del tiempo de administración en relación a las comidas. Existen diversos preparados antiácidos, los más utilizados son los antiácidos no absorbibles, principalmente sales de aluminio y magnesio. Los antiácidos absorbibles como el bicarbonato y el carbonato de calcio se usan en forma limitada en la actualidad (Bettarello, 1985).

Estudios recientes, han permitido establecer que los antiácidos que contienen $\text{Al}(\text{OH})_3$ estimulan los procesos protectores y reparadores en la mucosa gástrica expuesta a irritantes de la misma, como es el caso del etanol tanto en animales, como en humanos (Konturek, 1990).

1.4.2 ANTISECRETORES

Dentro de este grupo de fármacos, se encuentran los antimuscarínicos, los antagonistas H_2 , los inhibidores de la bomba de protones y los bloqueadores de los receptores para gastrina.

1.4.2.1 Antimuscarínicos

Este tipo de compuestos bloquean los receptores muscarínicos para acetilcolina e inhiben de esta forma la secreción gástrica estimulada por la acetilcolina. Los antimuscarínicos no selectivos como la atropina, se eliminaron de la terapia de la úlcera péptica, siendo reemplazados con algunas ventajas por compuestos tricíclicos que bloquean predominantemente a los receptores muscarínicos M_1 de las células parietales, de las cuales la pirenzepina es el prototipo (Bays *et al.*, 1990). El uso de la pirenzepina está limitado por sus efectos adversos, siendo los más frecuentes, resequedad de la boca y visión borrosa.

Entre otros antimuscarínicos también se encuentran la metantelina, la propantelina, la daranzepina y la telenzepina (Bertaccini y Coruzzi, 1985).

1.4.2.2 Antagonistas de los receptores H_2

El segundo grupo de compuestos clasificados como antiseoretos, es el de los de la histamina. Este grupo de compuestos, representa sin duda, una de las clases más importantes de medicamentos en el tratamiento de las úlceras pépticas.

Los antagonistas de los receptores H_2 en uso clínico son análogos de la histamina, y presentan una cadena lateral voluminosa, en lugar de la porción etilamina de la histamina. Los primeros fármacos del grupo, fueron la burimamida y la metiamida. El primero en uso clínico fue la cimetidina, el cual retienen el anillo imidazol de la histamina. En los productos más recientes, el anillo imidazolico es reemplazado por un furano (ranitidina) o un tiazol (famotidina y nizatidina)(Brunton, 1996).

La cimetidina es un potente inhibidor de la secreción ácido-gástrica estimulada por la histamina (Burland *et al.*, 1975). La cimetidina reduce la secreción gástrica basal en pacientes con úlcera duodenal en función de la dosis (Cambelli y Civardi, 1991). De manera adicional, provoca una disminución en la producción de pepsina. Cabe señalar que estudios clínicos demostraron que la cimetidina evita la recurrencia de la úlcera gástrica (Cambelli y Civardi, 1991).

En el caso de la cimetidina, los efectos adversos incluyen desórdenes mentales, impotencia o pérdida de la libido e incremento de creatinina y transaminasas en el plasma (Espejo y Noguez, 1990).

La ranitidina es un fármaco selectivo para receptores H₂. Esta, inhibe los estímulos de la secreción ácido-gástrica en animales y en el hombre, provoca una reducción en el volumen y la acidez del jugo gástrico, así como la reducción de la actividad péptica de dicha sustancia. La administración de este tipo de fármacos está mejor explicada por la disminución de la conversión de pepsinógeno a pepsina y una disminución de la actividad péptica y un aumento en el pH gástrico (Mills *et al.*, 1981).

Los efectos adversos de la ranitidina son: cefaleas, fatiga y aumento en los niveles de transaminasa (Thomson y Mohachai, 1987).

La nizatidina es un fármaco que inhibe la secreción basal y la estimulación de la secreción ácido gástrica (Pamparana y Battaglia, 1991).

La roxatidina, es un fármaco que inhibe la estimulación de la adenilato ciclasa por histamina, el efecto de este fármaco es comparable al de la ranitidina (Canali *et al.*, 1991).

La famotidina es un antagonista selectivo de los receptores H_2 , además de la supresión de la secreción ácida de las células parietales ambas en condiciones basales y bajo estimulación con histamina, pentagastrina, metacolina, dimaprit y la presencia de alimentos (Campoli-Richards y Clissol, 1986; Takagi et al., 1983). También disminuye la producción de pepsina, pero no tiene influencia en el bicarbonato gástrico (Piatti, 1991).

1.4.2.3 Inhibidores de la ATPasa H^+ / K^+ (Bomba de protones)

Son medicamentos de uso relativamente reciente, tales como el omeprazol, el pantoprazol y el lansoprazol, los cuales son derivados del bencimidazol.

El omeprazol, es el representante de una nueva clase de fármacos que inhiben la secreción gástrica de ácido al suprimir la actividad de la ATPasa H^+ / K^+ , quien juega un papel importante al desencadenar la acción de la bomba de protones en las células parietales. (Rama, 1996).

1.4.2.4 Antagonistas de la gastrina

El compuesto que representa a este grupo es la proglumida, derivado del ácido glutarámico, y que ha sido utilizado principalmente en Europa y Japón, debido a su capacidad de reducir la secreción gástrica. Dicha reducción parece deberse a que la proglumida es un antagonista de la gastrina, aunque se ha observado que no inhibe las secreciones producidas por la histamina o por la acetilcolina (Magous y Bali, 1983). La proglumida tiene una estructura similar a la parte terminal de la gastrina por lo que es posible que pudiera existir una acción competitiva (Espejo y Nogez, 1990). Existen también estudios que hacen referencia a la capacidad de la proglumida para proteger a la mucosa

gastroduodenal en los que sugieren, posee efectos de incremento en la resistencia de la mucosa y de citoprotección (Tariq *et al.*, 1987).

1.4.3 Citoprotectores

Citoprotección es la propiedad que tienen ciertos compuestos como las prostaglandinas, para proteger varios órganos del aparato digestivo (tracto gastrointestinal, hígado y páncreas) del daño causado por agentes nocivos (Szabo y Goldberg, 1990).

La citoprotección gástrica puede también definirse como una prevención de la hemorragia causada por el daño de la mucosa gástrica, sin la inhibición de la secreción ácida. El fenómeno citoprotector ha sido estudiado principalmente en el tracto gastrointestinal, particularmente en el estómago de rata, donde se han identificado dos tipos de citoprotección: directa y adaptativa (Konturek, 1990).

Se conoce como citoprotección directa a la protección de la mucosa gástrica (gastroprotección) provocada por la administración de prostaglandinas exógenas (Konturek, 1990).

La citoprotección adaptativa, es la gastroprotección que puede ser inducida no sólo por las prostaglandinas, sino también, por la aplicación de ciertos irritantes suaves (etanol 20%, NaCl al 5% ó HCl 3M), los cuales previenen las lesiones macroscópicas de la mucosa provocada por agentes necrosantes y estos efectos son parecidos a aquellos inducidos por las prostaglandinas. La citoprotección adaptativa se ha denominado así debido a que está mediado, por la liberación endógena de las prostaglandinas de la mucosa gástrica (Konturek, 1990; Szabo y Golberg, 1990).

Aunque las prostaglandinas fueron las primeras sustancias en clasificarse como citoprotectoras, actualmente se incluyen dentro de este grupo a ciertas sustancias que tienen una actividad semejante al de las prostaglandinas. Entre los otros compuestos incluidos en el grupo de citoprotectores encontramos al sucralfato, la carbenoxolona y las sales de bismuto.

1.4.3.1 Sucralfato.

El sucralfato es un complejo formado por octasulfato de sacarosa e hidróxido de polialuminio. Cuando el pH es inferior a 4, se produce una extensa polimerización y uniones cruzadas en el polímero de sucralfato. El producto es un gel blanco amarillento, muy espeso, viscoso. La reacción continua con el ácido consume en forma gradual el $\text{Al}_2(\text{OH})_5^+$, hasta que algunas partes del octasulfato de sacarosa se liberan por completo del Al^{3+} . El compuesto residual cargado negativamente, se une parcialmente a la proteína desnaturalizada y cargada positivamente que se encuentra en la base de la úlcera. El sucralfato no tiene capacidad práctica de neutralizar el ácido; se adhiere de forma firme a las células epiteliales y a la base de los cráteres ulcerosos. La afinidad por la base del cráter es mucho mayor que por la superficie epitelial y es difícil lavar el gel del cráter. Es probable que esta unión con los cráteres ulcerosos represente la principal acción terapéutica del sucralfato, inhibiendo también la actividad péptica por acción directa de la pepsina y los ácidos biliares. Se ha propuesto que el sucralfato estimula la formación de prostaglandinas por la mucosa gástrica, ejerciendo así una acción "citoprotectora" (Ligumsky *et al.*, 1984).

1.4.3.2 Compuestos de bismuto

Las preparaciones de Bismuto trivalente tienen propiedades terapéuticas y son utilizadas mundialmente. El subsalicilato de bismuto (Pepto-Bismol®) y el subcitrato de bismuto coloidal (SBC), son tal vez los productos de mayor aplicación terapéutica. El subcarbonato, subcitrato, subgalato y otras sales mas de bismuto constituyen la base de preparados de uso parenteral. Aunque estos compuestos no tienen una capacidad neutralizante de ácido sustancial, inhiben la actividad de la pepsina, aumentan la secreción del moco e interactúan con proteínas en el cráter necrótico de la úlcera, tal vez formando una barrera a la difusión del ácido. Los coloides de bismuto también producen desprendimiento y adsorción del *Helicobacter pylori* del epitelio gástrico, con la consiguiente eliminación de la bacteria (Brunton, 1996).

En otros estudios se demostró, que la síntesis de prostaglandinas endógenas se estimula por compuestos de bismuto (Gorbach, 1990).

1.4.3.3 Carbenoxolona.

La carbenoxolona es un triterpeno pentacíclico derivado de la hidrólisis del ácido glicirrízico; fue uno de los primeros medicamentos empleados contra éste mal y no afecta la secreción gástrica. Su mecanismo de acción es desconocido, pero parece que ayuda al aumento de la capacidad autoprotectora en la mucosa por un incremento de moco y especialmente en la producción del ácido N-acetilneuramínico, además de reducir la proporción de descamación celular, ayudando así a una mejor maduración de la mucosa gástrica. Aparentemente, la carbenoxolona puede inhibir a la enzima 15-OH prostaglandina-deshidrogenasa

con un consecuente incremento de prostaglandinas en la mucosa gástrica (Espejo y Noguez, 1990).

1.4.3.4 Prostaglandinas

Las prostaglandinas son un grupo de ácidos grasos oxigenados de cadenas largas derivados del ácido araquidónico. Las prostaglandinas E_2 e I_2 , las predominantes en la mucosa gástrica, inhiben la secreción de ácido y estimulan la secreción de moco y bicarbonato. Debido a que la administración de prostaglandinas puede proteger la mucosa gástrica de los animales contra varias agresiones ulcerogénicas, se han desarrollado varios análogos de metabolización lenta. Estos incluyen al misoprostol, un análogo de la PGE_1 .

El enprostil tiene también la habilidad de proteger la microvasculatura gástrica contra los daños causados por el etanol (O'Brien et al., 1986) y de proteger la mucosa de los efectos nocivos de fármacos antiinflamatorios no esteroidales.

1.4.4 Citoprotección independiente de prostaglandinas

Esta protección incluye sustancias que no estimulan la biosíntesis de prostaglandinas en la mucosa, como lo son: grupos sulfhidrilos, el factor de crecimiento epidérmico (FCE), la somatostatina, meciadanol y ciertos antibióticos.

Los grupos sulfhidrilo se encuentran en compuestos tales como la cisteína, la metionina y el glutatión. Estos productos naturales de la mucosa gástrica, pueden entrar directamente en las reacciones químicas involucradas en la protección de la mucosa. El objetivo citoprotector por grupos sulfhidrilos es la conservación de la circulación microvascular de la mucosa a través de la salida de los radicales libres; permitiendo la rápida restitución y proliferación de las células mucosas. Se

ha sugerido que los grupos sulfhidrilos pueden estimular la síntesis de prostaglandinas o reducir la producción de los contenidos mucosos de leucotrienos C₄, D₄ y E₄ (sustancias que favorecen la producción de lesiones ulcerosas) (Konturek, 1990).

Los péptidos hormonales como el factor de crecimiento epidérmico y la somatostatina protegen a la mucosa gástrica principalmente contra el daño causado por algunos agentes necrosantes (aspirina acidificada o taurocolato y en menor el daño por etanol).

El factor de crecimiento epidérmico es un polipéptido producido por las glándulas salivales y de Brunner. Este estimula la síntesis del RNA y DNA en la mucosa y además favorece el crecimiento y la diferenciación celular y acelera la reparación de la mucosa (Guslandi y Tittobello, 1991).

Se ha encontrado que fármacos antiulcerosos tales como el sucralfato y bismuto coloidal enlazan el factor de crecimiento epidérmico y lo transportan al área ulcerada (Konturek, 1988).

El Meciadanol es un inhibidor de la actividad de la histidina-descarboxilasa, y tiene una potente acción gastroprotectora contra el daño producido por etanol y aspirina puede deberse por la disminución de la formación de histamina en la mucosa (Konturek, 1990).

1.4.4.1 Sulglicótido

El sulglicótido es un glicopéptido en forma de sal de sodio. Este fármaco se comporta como un agente que cubre la mucosa y su acción citoprotectora parece estar relacionada a la estimulación de la producción de prostaglandinas

gastrointestinales, e intervenir en el mecanismo de estabilización de la estructura lisosomal en las células de la mucosa (Brunton, 1996).

1.4.4.2 Alginato.

El alginato es un compuesto capaz de oponer una barrera "mecánica" al reflujo esofágico del contenido gástrico ácido o no ácido. La actividad terapéutica del ácido algínico de alginatos deriva en una transformación local de la suspensión de este polímero por el jugo gástrico en un gel el cuál, protege mecánicamente la mucosa gástrica de lesiones inducidas por ácido clorhídrico, reduce la acidez del jugo gástrico y evita el reflujo esofagico por flotamiento de éste sobre el contenido gástrico (De Vicentiis *et al.*, 1991).

1.5 INDUCCION DE ULCERA CON ETANOL.

Los alcoholes son sustancias químicas que solubilizan a los lípidos, estos son miscibles con agua y penetran rápidamente en los tejidos suaves, como la mucosa gástrica.

El etanol induce directa e indirectamente una necrosis extensa de la superficie de la mucosa gástrica y el daño severo de la zona proliferativa. El etanol concentrado, es dañino a la mucosa gástrica a pesar del pH luminal; de ahí que no sorprenda que la inhibición del ácido no sea un factor de protección contra las lesiones inducidas por el alcohol.

El etanol concentrado causa la solubilización de la superficie de la mucosa gástrica así como la destrucción rápida del moco de las células epiteliales con la formación de áreas necróticas, permitiendo su penetración, causando una lesión más profunda, la cual depende de la concentración del alcohol. El alcohol causa rupturas de las uniones herméticas, que unen a las células epiteliales y exfoliación celular, con exposición de la lámina propia en pocos minutos. El etanol absoluto provoca que la membrana lisosomal sea lábil y libere enzimas lisosomales y citosólicas, que contribuyen al daño profundo de la mucosa (Szabo y Golberg, 1990).

1.6 PLANTAS MEDICINALES MEXICANAS CON EFECTO ANTIULCEROSO

En la actualidad, existe una gran cantidad de plantas de uso popular en el tratamiento de la úlcera péptica, cabe mencionar que su uso no es de manera individual únicamente, sino que también se emplean de manera conjunta

formando mezclas. En la tabla 2 se presentan los nombres de algunas de las plantas a las que se les atribuyen propiedades curativas en el tratamiento de la úlcera péptica y a las que se les ha realizado algún estudio farmacológico.

Se tiene el registro de 56 plantas medicinales Mexicanas utilizadas como antiulcerosas y aunque es muy amplio su consumo, únicamente se han realizado estudios farmacológicos que validen la actividad biológica a 5 de ellas, a saber: el Cuachalalate (Navarrete *et al.*, 1998), el Axihuitl (Navarrete *et al.*, 1989), la Zábila (Parmar *et al.*, 1896), la Cancerina (Navarrete *et al.*, 1992) y el Huilocuahuitl (Navarrete *et al.*, 1992).

1.7 PRINCIPIOS ACTIVOS DE PLANTAS CON ACTIVIDAD ANTIULCEROSA

Las plantas proveen una estrategia alternativa en la búsqueda de nuevos fármacos. La explotación de viejos libros de herbolaria llevó a la obtención del primer fármaco antiulceroso moderno, la Carbenoxolona. Las plantas medicinales ofrecen una fuente rica de nuevas moléculas para explorar como posibles fármacos o como herramientas bioquímicas para comprender la etiología.

En la Tabla 3 se enlistan los principios activos de plantas que tienen actividad antiulcerosa (Lewis y Hanson, 1991).

Tabla 2. Plantas medicinales utilizadas como antiulcerosos que cuentan con algún estudio farmacológico.

NOMBRE CIENTÍFICO	FAMILIA	REFERENCIA
<i>Agave monticola</i>	Liliaceas	Navarrete <i>et al.</i> , 1992
<i>Aloe vera</i>	Liliaceas	Parmar <i>et al.</i> , 1986
<i>Arnica montana</i>	Compuestas	Navarrete <i>et al.</i> , 1992
<i>Amphipterygium adstringens</i>	Julianiaceas	Navarrete <i>et al.</i> , 1990; 1998
<i>Asparangus racemosus</i>	Liliaceas	Dahanuca <i>et al.</i> , 1983
<i>Benicasa cerifera</i>	Cucurbitáceas	Jangaanavar, 1986
<i>Bidens pilosa</i>	Compuestas	Avalos y Díaz, 1984
<i>Calendula sp</i>	Compuestas	Istudor <i>et al.</i> , 1981
<i>Carica cauliflora</i>	Caricaceas	Espinosa, 1985
<i>Cassia alata</i>	Leguminosa	Mendieta <i>et al.</i> , 1981
<i>Catha edulis</i>	Celastráceas	Tariq <i>et al.</i> , 1984
<i>Centella asiatica</i>	Umbelíferas	Cho <i>et al.</i> , 1984 Chung y Chung, 1981
<i>Croton fragilis</i>	Euforbiaceas	Estrada, 1985
<i>Equisetum rubustum</i>	Equisetacea	Espinosa, 1985
<i>Eruca sativa</i>	Cruciferaeas	Del Amo, 1979
<i>Eupatorium aschembornianum</i>	Compuestas	Navarrete <i>et al.</i> , 1989
<i>Guymnosterma pentafilum</i>	Cucurbitáceas	Nippon y Takemoto, 1983
<i>Hippocratea excelsa</i>	Hipocratacea	Navarrete <i>et al.</i> , 1992
<i>Hipericum sp</i>	Gutífera	Istudor <i>et al.</i> , 1981
<i>Homelia erecta</i>	Rubiacea	Estrada, 1985
<i>Homelia patens</i>	Rubiacea	Espinosa, 1985
<i>Linderae umbellatae</i>	Laboráceas	Ezaqui <i>et al.</i> , 1985 Kato <i>et al.</i> , 1982
<i>Matricaria chamomilla</i>	Compuestas	Tamasdan <i>et al.</i> , 1981
<i>Mentha pulegium</i>	Labiata	Espinosa, 1985
<i>Melia azedarach</i>	Meliáceas	Moursi y Al-kathif, 1984
<i>Minosa tenuifolia</i>	Leguminosa	Martínez, 1985

Tabla 2. Plantas medicinales utilizadas como antiulcerosos que cuentan con algún estudio farmacológico (Continuación).

NOMBRE CIENTÍFICO	FAMILIA	REFERENCIA
<i>Musa sapientum</i>	Musáceas	Goel <i>et al.</i> , 1985
<i>Musa paradisiaca</i>	Musáceas	Goshal y Saini, 1984
<i>Nopalea dejecta</i>	Cactacea	Del Amo, 1979
<i>Opuntia sp</i>	Cactacea	Martínes, 1985
<i>Pachysandra terminalis</i>	Buxáceas	Watanabe <i>et al.</i> , 1986
<i>Panax ginsen</i>	Araliáceas	Matsuda, 1984
<i>Plantago asiatica</i>	Plantagináceas	Voitenko <i>et al.</i> , 1983
<i>Renacantha estaudii</i>	Icanáceas	Aguwa y Mittal, 1981
<i>Robina seudacasia</i>	Leguminosa	Tamsdan <i>et al.</i> , 1981
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Labiata	Espinosa, 1985
<i>Taluifera pepeirae</i>	Labiata	Espinosa, 1985
<i>Terminalia chebula</i>	Combretáceas	Dahanuka <i>et al.</i> , 1983
<i>Trigonella foenum-graecum</i>		Al-Meshal <i>et al.</i> , 1985
<i>Triunffeta semitriloba</i>		Esquivel y Ugalde, 1987
<i>Urtica chamaedryoides</i>	Urticacea	Del Amo, 1979
<i>Valeriana faurieri</i>	Valerianáceas	Tamura <i>et al.</i> , 1985

Tabla 3. Principios activos obtenidos de plantas con actividad antiulcerosa.

TIPO DE METABOLITO	NOMBRE	FUENTE NATURAL
Triterpenos	Carbenoxolana sodica	<i>Regadis</i>
	Acido oleanólico	<i>Prosopts glanulosa</i> <i>Calendula sp</i> <i>Helianthus sp</i>
	Acetato de lupeol	<i>Spilantes ocymifolia</i>
	Taraxerol	<i>Taraxacum officinale</i>
	Acido ursólico	<i>Psychotria adenophylla</i>
	Acido Serícico	<i>Terminalia sericea</i>
Saponinas triterpénicas	Quillaja I y II	<i>Pyrenacantha staudtis</i>
	Gypenosido	<i>Gynostemma pentaphyllum</i>
Acetatos fenolicos	Acetato de 1'-acetoxyeugenol	<i>Alpina galanga</i> <i>Alpina conchigera</i>
Sesterpenos	Gefanil	<i>Brassica oleracea</i>
nortriterpenoides	Nimbin	<i>Azadidirachte indica</i>
	Nimbolido	<i>Azadidirachte indica</i>
	Nimbolidin A y B	<i>Azadidirachte indica</i>
	17-epiazadiradiona	<i>Azadidirachte indica</i>
Lactonas diterpénicas	Plaunol B	<i>Croton sublyratus</i>
Diterpenos aciclicos	Plaunotol	<i>Croton sublyratus</i>
Flavonoides	Catequina	<i>Artocarpus integra</i>
Taninos	Trimer A	<i>Lindera umbellata</i>
Chalconas	Isoliquiritin Glicosido de isoliquiritin	
Chalconas	Kumatakenina	<i>Alpina kumataka</i>
	Licoflavonol	
	Licuzido	
	Gliciol coumestan	
Isoflavonas	Licoricona	
Flavonoides	8-glucosido de hipolaetin	<i>Sideritis mugronensis</i>
	Luteolin	
	4'-O-metil escutelareina	<i>Clerdendron inerma</i>
	Miricetina	
	Gnafalosido	
	Quercetina	
	Naringenina	
	Gospina	
	Solon	
	Sophoradin	<i>Sophora subprostrata</i>
Alcaloides	Atropina	<i>Atropia belladona</i>
	Matrina y Oximatrina	<i>Sophora subprostrata</i>

Tabla 3. Principios activos de plantas con actividad antiulcerosa (continuación).

TIPO DE METABOLITO	NOMBRE	FUENTE NATURAL
	Pachyterminina A Pachysamina A Epipachysamina A Pachysandrina A Spiropachsina	<i>Pachysandra terminalis</i>
Glicosidos	Cassiosido	<i>Cinnamomium cassia</i>
	Cinnamosido	<i>Cinnamomium cassia</i>
Naftoquinonas	Lapachol	<i>Tectona grandis</i>
Lignanos	Isoschizandrina	<i>Schizandra chinensis</i>
Acidos orgánicos	Acido linoleico	<i>Oenothera biennis</i>
	Acido 6-gingesulfónico	<i>Zingiber officinale</i>
	β -sesquifelandreno	<i>Zingiber officinale</i>
	β -bisaboleno	<i>Zingiber officinale</i>
Sesquiterpenos	Saussuraminas A,B y C	<i>Saussurea radix</i>
Xantonas	Jacoreubina	<i>Calophyllum inophyllum</i>
	6-desoxijereubina	<i>Mesua ferrea</i>

II.JUSTIFICACION.

En los últimos años se ha observado un incremento alarmante en la incidencia de úlcera péptica en la población de México, y considerando el elevado costo (con relación al ingreso de los mexicanos) de los medicamentos empleados para el tratamiento de este padecimiento, es necesario contar con otras alternativas para el tratamiento de este padecimiento, que sean seguras, eficaces y al alcance de los sectores con menor ingreso.

La búsqueda de principios bioactivos a partir de especies vegetales está bien documentada, y aunque se ha observado un creciente interés por la investigación de otras fuentes naturales, las plantas continúan siendo una fuente potencialmente valiosa para la obtención de productos naturales de interés para el desarrollo de agentes medicinales.

Las plantas que gozan de una mayor reputación como antiulcerosas en México son el cuachalalate (*Amphytergium adstringens*) y la cancerina (*Hippocratea excesa*), plantas que se encuentran en la mayoría de los mercados de México (Navarrete *et al.*, 1998).

Sánchez (1991) y Nariñán (1994), comprobaron que la cancerina (*Hippocratea excesa*) tiene un efecto gastroprotector, no obstante, se desconoce cual o cuales son los metabolitos responsables del efecto antiulceroso, por lo que se consideró importante llevar a cabo el estudio de esta planta con la finalidad de evaluar el efecto citoprotector del extracto metanólico de la corteza de la raíz de cancerina, así como el aislamiento, caracterización y evaluación biológica de los constituyentes de este extracto activo para conocer su participación en el efecto

gastroprotector atribuido a la corteza de la raíz de esta planta medicinal mexicana.

III. OBJETIVOS

3. OBJETIVO GENERAL

Determinar la actividad gastroprotectora de las fracciones y de los compuestos puros aislados y caracterizados del extracto metanólico de la corteza de la raíz de *Hippocratea excelsa* (cancerina).

3.1. OBJETIVOS PARTICULARES.

1. Realizar la revisión bibliográfica sobre los aspectos generales, etnobotánicos, fitoquímicos y farmacológicos de la cancerina, así como de los antecedentes de la úlcera y los agentes antiulcerosos obtenidos a partir de fuentes vegetales.

2. Preparar el extracto metanólico de la corteza de la raíz de la cancerina.

3. Evaluar el efecto gastroprotector del extracto metanólico de la corteza de la raíz de la cancerina.

4. Realizar el fraccionamiento del extracto metanólico de cancerina siguiendo el efecto gastroprotector.

5. Separar y purificar a los compuestos gastroprotectores presentes en las fracciones activas mediante el empleo de las técnicas cromatográficas convencionales.

6. Determinar la actividad gastroprotectora de las fracciones y compuestos puros, mediante el empleo del método de evaluación gastroprotectora de las lesiones inducidas por etanol en rata Wistar.

gastroprotector atribuido a la corteza de la raíz de esta planta medicinal mexicana.

III. OBJETIVOS

3. OBJETIVO GENERAL

Determinar la actividad gastroprotectora de las fracciones y de los compuestos puros aislados y caracterizados del extracto metanólico de la corteza de la raíz de *Hippocratea excelsa* (cancerina).

3.1. OBJETIVOS PARTICULARES.

1. Realizar la revisión bibliográfica sobre los aspectos generales, etnobotánicos, fitoquímicos y farmacológicos de la cancerina, así como de los antecedentes de la úlcera y los agentes antiulcerosos obtenidos a partir de fuentes vegetales.

2. Preparar el extracto metanólico de la corteza de la raíz de la cancerina.

3. Evaluar el efecto gastroprotector del extracto metanólico de la corteza de la raíz de la cancerina.

4. Realizar el fraccionamiento del extracto metanólico de cancerina siguiendo el efecto gastroprotector.

5. Separar y purificar a los compuestos gastroprotectores presentes en las fracciones activas mediante el empleo de las técnicas cromatográficas convencionales.

6. Determinar la actividad gastroprotectora de las fracciones y compuestos puros, mediante el empleo del método de evaluación gastroprotectora de las lesiones inducidas por etanol en rata Wistar.

7. Realizar la elucidación estructural de los compuestos activos mediante el empleo de métodos químicos, espectroscópicos y espectrométricos.

IV MATERIALES Y METODOS

4. PROCEDIMIENTOS GENERALES

4.1. SEPARACION CROMATOGRAFICA

Los análisis cromatográficos en columna abierta se efectuaron siguiendo las técnicas convencionales, en columnas de vidrio empacadas con gel de sílice Merck 60, gránulos de 0.2-0.5 mm, malla 3.5 a 7.0 ASTM. Para los análisis cromatográficos cualitativos y preparativos en capa fina, se emplearon placas de aluminio recubiertas con gel de sílice (Sílica gel 60 F₂₅₄ Merck) con un espesor de 0.25 mm y placas de vidrio (20X20 cm) recubiertas de gel de sílice (Sílica gel 60 F₂₅₄ Merck) de 2 ó 0.25 mm de espesor, respectivamente. En ambos casos se utilizaron diversos sistemas de elución y agentes cromógenos, los cuales se resumen en los Cuadros 2 y 3, respectivamente.

Cuadro 2. Sistemas de elución utilizados para los análisis cualitativos en capa fina.

SISTEMA DE ELUYENTES	COMPOSICION	PROPORCION
A	Hexano-CHCl ₃ -MeOH	Diversas
B	Hex-AcOEt	Diversas
C	AcOEt-MeOH	Diversas
D	CH ₂ Cl ₂ -MeOH	Diversas

Cuadro 3 Agentes cromógenos utilizados para los análisis cromatográficos en capa fina.

REACTIVOS	AGENTE CROMOGENO	REFERENCIA
Sulfato cérico	12.0 g de sulfato cérico 22.2 ml de ác. sulfúrico concentrado 350 g de hielo picado	Lowery <i>et al.</i> , 1993
Yodo	Yodo metálico	Touchstone, J. C., 1992

4.2 Caracterización de los productos naturales y sus derivados

De manera general, la caracterización de los productos naturales aislados y/o sus derivados se realizó por métodos espectroscópicos y espetrométricos.

Los espectros de masas se determinaron en un aparato Hewlet-Packard 5890, serie II, con voltaje de 70eV para el registro.

Los espectros de RMN se registraron en un aparato Varian VXR-3005 utilizando como disolventes CHCl_3 o MeOH o CDCl_3 , y como referencia interna TMS.

La rotación óptica se midió en un polarímetro digital JASCO DIP 360. Los espectros en el IR se registraron en un espectrofotómetro de rejilla Perkin-Elmer, modelo 599, en película y en pastilla de KBr. Todos los experimentos se registraron en el Instituto de Química, UNAM.

4.3 Preparación de los derivados de los compuestos aislados.

4.3.1 Obtención de los derivados metilados.

Para obtener los derivados metilados de los compuestos se utilizó una solución etérea de diazometano, preparada con hidróxido de potasio (5.0 g en 7.5 ml de agua), 25 ml de metanol y 21.9 g de N-metil-N-nitroso-p-toluensulfonamida

(Diazald, Aldrich) en 45 ml de éter etílico. Por cada 100 mg del producto a metilar se utilizaron 20 ml de la solución etérea de diazometano. El producto a metilar se disolvió en metanol o éter etílico y la mezcla de reacción se dejó a temperatura ambiente durante 24 horas (Pavia, 1995).

4.3.2 Obtención de los derivados acetilados.

Para obtener los derivados acetilados de los compuestos, se utilizaron 1 ml de piridina y 1 ml de anhídrido acético por cada 100 mg de muestra. La mezcla de reacción se dejó en reposo durante 24 horas y al término de este tiempo los productos acetilados fueron separados de la manera convencional (Pavia, 1995).

4.4 Determinación de la actividad gastroprotectora.

4.4.1 Animales de laboratorio

Para la evaluación biológica del extracto metanólico, fracciones y compuestos puros de la planta se utilizaron ratas macho Wistar con un peso corporal entre 200 y 250 gramos. Los animales se mantuvieron bajo condiciones estándar de laboratorio y se alimentaron con una dieta normal de laboratorio y agua *ad libitum*. Las ratas se colocaron en cajas individuales con piso de malla de alambre y se privaron de alimento por 24 horas antes de realizar el experimento, permitiéndoles libre acceso al agua. Todos los experimentos se llevaron a cabo usando de 6-8 animales por grupo.

4.4.2 Fármacos y dosificación

Los extractos, las fracciones y los compuestos puros obtenidos de la planta se suspendieron en Tween 80 al 0.5%. El subsalicilato de bismuto (Pepto-Bismol® líquido) se empleó como fármaco gastroprotector de referencia (Gorbach, 1990) a

una dosis de 90 mg/Kg. Los fármacos se prepararon en el momento y se administraron por vía intragástrica. Las ratas control recibieron el vehículo (tween 80 al 0.5%) en el mismo volumen (0.5 ml/ 100 g) y por la misma vía de administración.

4.4.3 Protección contra la úlcera inducida por etanol.

La ulceración se indujo de acuerdo a la metodología descrita por Robert (1979), mediante la administración intragástrica de 1 ml de etanol absoluto. Los fármacos se administraron en diferentes dosis a diferentes grupos de animales 30 min antes de la administración del etanol. Dos horas después de la administración del etanol, los animales se sacrificaron mediante la inhalación de éter. Se realizó la extracción de los estómagos y se llenaron con 5 ml de formalina al 3%; posteriormente, se colocaron en una caja de Petri con formalina al 3% para fijar tanto la capa interna como la externa del estómago. Una vez fijados, los estómagos se abrieron a lo largo de la curvatura mayor.

El área dañada (mm²) se midió con un microscopio estereoscópico (X10), el cual contaba con un micrómetro ocular. Se calculó la suma del área de todas las lesiones en el cuerpo del estómago para cada animal y sirvió como el índice de ulceración. El % de gastroprotección se calculó con base en la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de Gastroprotección} = \frac{IUC - IUP}{IUC} \times 100$$

Donde IUC, es el índice de ulceración del control (mm²), IUP es el índice de ulceración del animal con el tratamiento de prueba (Navarrete *et al.*, 1998).

En el diagrama 1 se presenta un esquema de la metodología seguida en la evaluación del efecto gastroprotector.

4.5 Evaluación del efecto de la (-)epicatequina sobre la secreción gástrica.

El ensayo de la inhibición gástrica en ratas se realizó de acuerdo al método de Shay (Shay *et al.*, 1954).

Se utilizaron ratas Wistar machos con ayuno de 24 horas con acceso libre al agua y evitando la coprofagia. Al término de este tiempo, se administraron los tratamientos por intubación gástrica con una sonda de polietileno. Al lote de prueba se le administró la (-)epicatequina a una dosis de 100 mg/ Kg, suspendida en Tween 80 al 0.5%, y al lote control se le administró el vehículo (Tween 80 al 0.5%, 0.5 ml/ 100g de peso); transcurridos 30 minutos se ligó el píloro (eliminando hasta entonces el acceso al agua). Después de 6 horas, los animales se sacrificaron por una sobredosis de éter etílico, se extrajo el estómago y se midió el volumen del jugo gástrico previamente centrifugado a 3000 rpm por 10 min y se valoró con una solución de NaOH 0.01N. Se realizó una medición cualitativa del estómago para observar presencia de daño gástrico.

4.5.1 Análisis estadístico.

La significancia de los resultados se analizó aplicando la prueba de rangos de Mann y Whitney para los resultados de los experimentos del efecto gastroprotector y para evaluar el efecto sobre el volumen de secreción y la cantidad de ácido liberado, se realizó un análisis de varianza. Se consideraron diferencias significativas para una $P \leq 0.05$.

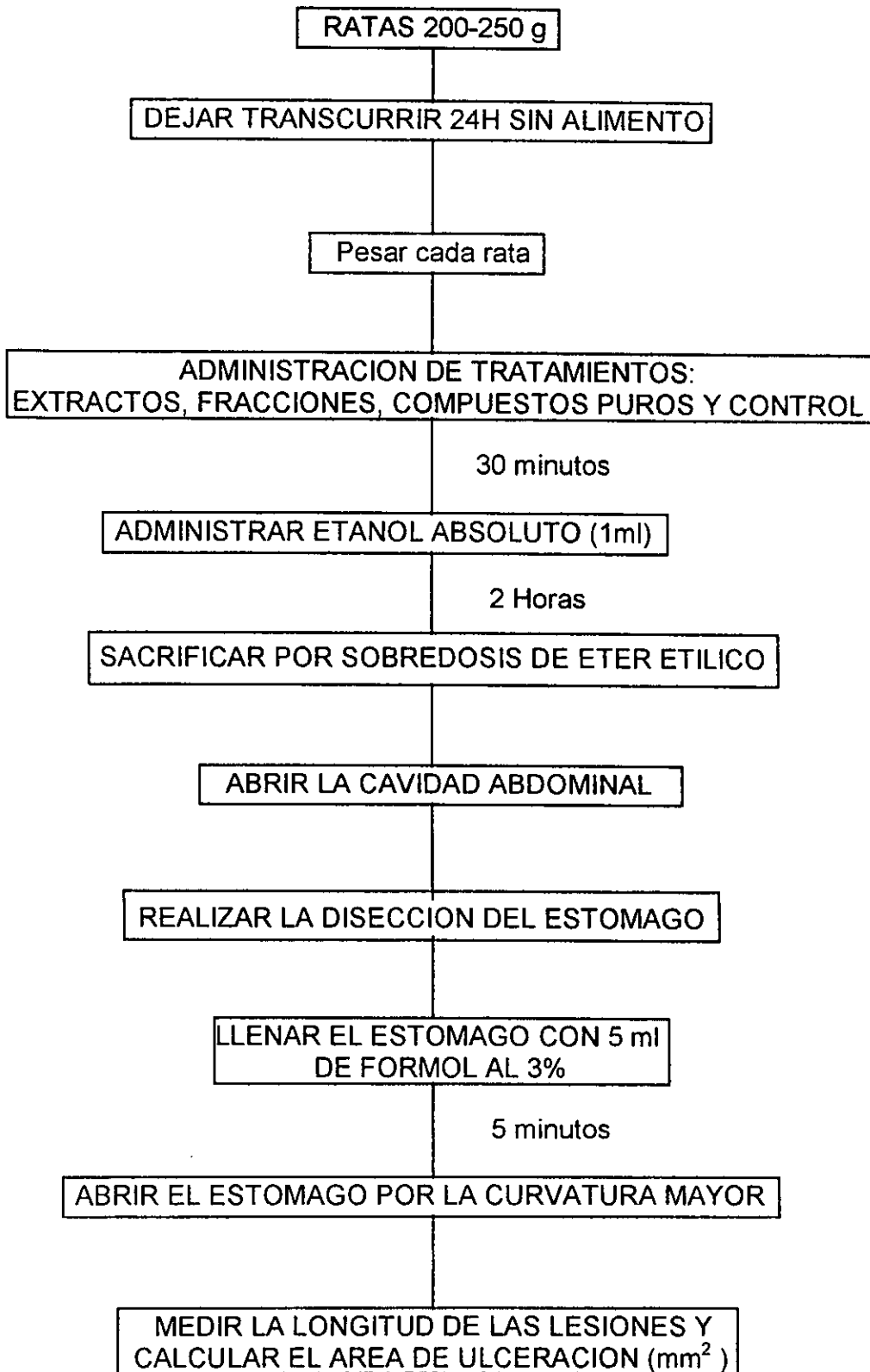


Diagrama1. Ensayo biológico para determinar la actividad gastroprotectora.

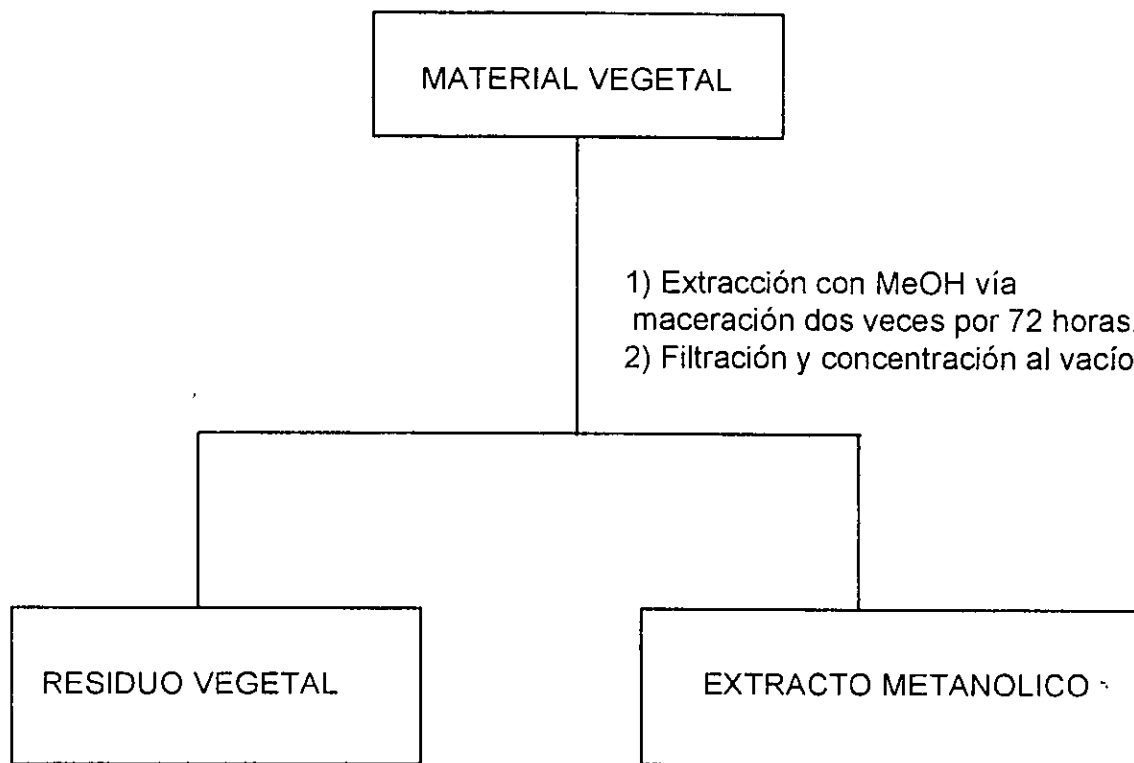
4.6. MATERIAL VEGETAL

El material vegetal (corteza de la raíz) utilizado en el presente estudio se recolectó en la Costa Grande de Guerrero, en el mes de febrero de 1992, y una muestra de referencia se depositó en el Herbario Efraim Hernández X. de la Universidad Autónoma Chapingo con, número de registro 199141.

El proceso de desecación del material vegetal se realizó a temperatura ambiente, y la fragmentación del mismo se realizó manualmente.

4.7 Extracción de la corteza de la raíz de *Hippocratea excelsa*.

El material seco y fracturado manualmente (4.89 kg), se extrajo mediante un proceso de maceración a temperatura ambiente con 27 litros de MeOH, proceso mediante el cual se logró la obtención de 526.8 g de extracto crudo. En el diagrama 2 se resume el procedimiento empleado.



PESO TOTAL DEL EXTRACTO 526.8 g.
VOLUMEN TOTAL DE MeOH (ANHIDRO) 27 litros.

Diagrama 2. Proceso de extracción de la corteza de la raíz de *Hippocratea excelsa*.

4.8 Fraccionamiento preliminar del extracto metanólico.

Se tomaron 500 g del extracto metanólico y se fraccionaron en una columna cromatográfica abierta utilizando como adsorbente 815.7 g de gel de sílice. El proceso de elución se efectuó con Hexano, Hex-AcOEt (en diferentes proporciones), AcOEt y AcOEt-MeOH (en diferentes proporciones). Se colectaron 136 fracciones de 1 lt cada una. Cada una de las fracciones se analizó por cromatografía en capa fina y se combinaron todas aquellas con similitud cromatográfica. Este proceso generó como resultado la obtención de 4 fracciones primarias (HE-A – HE-D). En el cuadro 4 se resume el fraccionamiento cromatográfico del extracto total de la corteza de la raíz de *Hippocratea excelsa*.

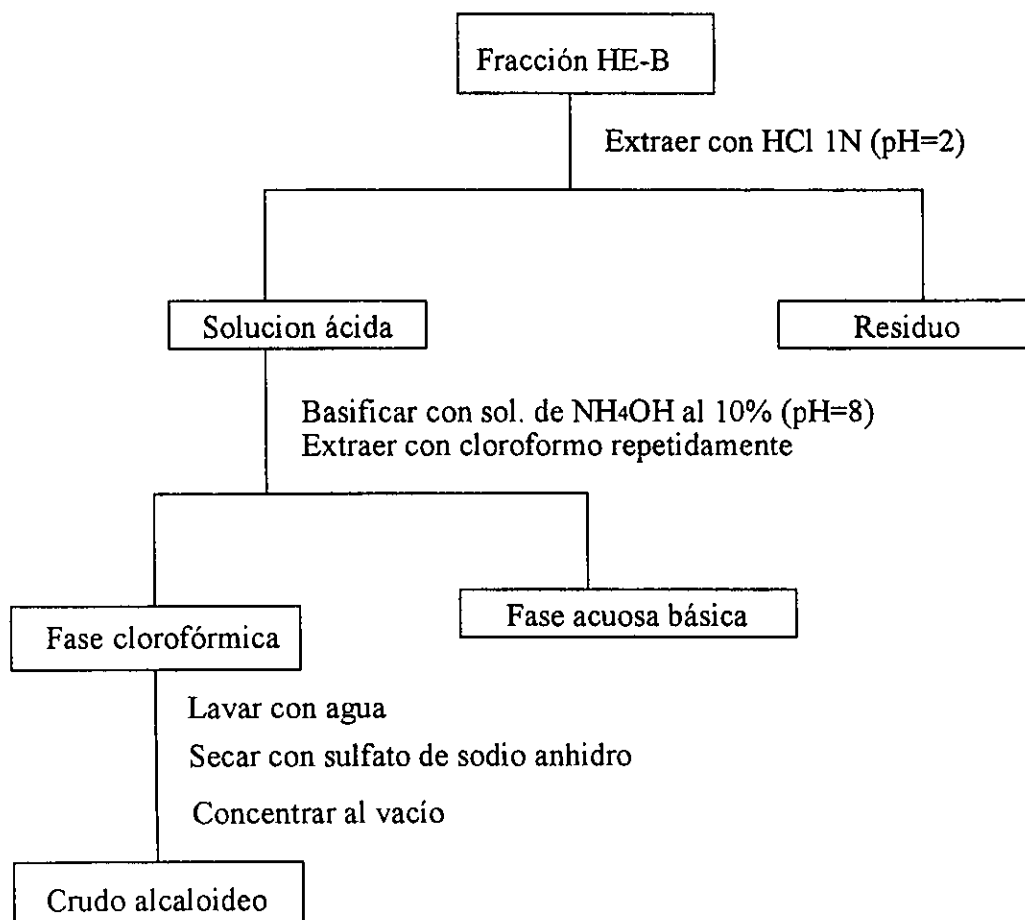
Cuadro 4. Fraccionamiento preliminar por cromatografía en columna abierta del extracto crudo de la corteza de la raíz de *Hippocratea excelsa*.

Eluyente	Proporción %	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave	Peso (g)
Hexano	100	1-13	1-79	HE-A*	30.48
Hex-AcOEt	90-10	14-59			
	80-20	60-64	80-96	HE-B*	2.40
	70-30	65-73			
	60-40	74-87			
	50-50	88-96			
	40-60	97-102			
	30-70	103-107	97-131	HE-C*	30.54
	20-80	108-120			
	10-90	121-125			
AcOEt	100	126-130	132-136	HE-D*	32.40
AcOEt-MeOH	90-10	131-132			
	50-50	133-135			
	30-70	136			

*Fracciones bioactivas de acuerdo al bioensayo empleado.

4.8.1 Obtención del crudo alcaloideo de la fracción HE-B.

El crudo alcaloideo se obtuvo de la fracción HE-B mediante una partición ácido-base, tal y como se muestra en el siguiente diagrama.



4.9 Fraccionamiento secundario del extracto metanólico.

El fraccionamiento secundario del extracto metanólico, se llevó a cabo mediante la aplicación de técnicas cromatográficas convencionales, tal y como se menciona en la sección 4 de procedimientos generales. Este fraccionamiento permitió el aislamiento de 6 compuestos puros así como la mezcla de α y β amirinas.

V. RESULTADOS Y DISCUSION

5. Obtención de los compuestos gastroprotectores.

La estrategia implementada en el presente estudio abarcó las siguientes etapas:

1. Preselección e identificación taxonómica del material vegetal.
2. Selección del material vegetal mediante la evaluación biológica preliminar del extracto metanólico de la planta.
3. Preparación del extracto metanólico a mayor escala.
4. Fraccionamiento del extracto metanólico.
5. Separación y purificación de los constituyentes presentes en las fracciones activas.
6. Caracterización de los constituyentes bioactivos.
7. Evaluaciones biológicas de los compuestos puros o sus derivados.

La preselección de la planta *Hippocratea excelsa*, se realizó fundamentalmente con base en el criterio más utilizado para la detección de fuentes potenciales de principios bioactivos: el etnomédico, que se fundamentó en el reconocido uso medicinal que tiene dicha planta en el tratamiento de úlcera gástrica.

Una vez recolectado e identificado el material vegetal se determinó de manera preliminar el efecto gastroprotector del extracto metanólico de la planta a las dosis de 100 y 300 mg/Kg, midiendo su efecto protector en el bioensayo de inducción de úlcera con etanol.

Los resultados de esta determinación se muestran en la tabla 4, en los cuales se observa que el extracto de la planta protegió de manera significativa al estómago a la dosis de 300 mg/Kg.

La preparación del extracto en gran escala se realizó mediante un procedimiento de maceración tal como se indicó en la sección experimental. A continuación, el extracto metanólico se fraccionó mediante el uso de una columna cromatográfica abierta, usando gel de sílice como fase estacionaria. Este proceso generó un total de 4 fracciones primarias activas HE-A-HE-D (Cuadro 4, sección experimental).

A una dosis de 300 mg/kg, las fracciones HE-A Y HE-B produjeron prácticamente una gastroprotección total de las lesiones inducidas por el etanol (tabla 4); el subsalicilato de bismuto (SSB, 90mg/kg) se utilizó como fármaco de referencia (tabla 4). Las actividades gastroprotectoras de las fracciones HE-A, HE-B, HE-C y HE-D fueron considerablemente más altas que las mostradas por el fármaco de referencia.

Tabla 4. Actividad gastroprotectora de fracciones y metabolitos aislados de la corteza de la raíz de cancerina.

Fracción ó compuesto	Dosis (mg/kg)	Area lesionada (mm ²)	% Gastroprotección
Exto. MeOH	100	123.6	22.5±30.24
	300	41.8	73.79±7.97*
HE-A	300	17.39	89.1±11.81*
HE-B	300	16.84	89.4±2.69*
HE-C	300	45.31	71.6±13.34*
HE-D	300	61.85	61.23±9.15*
Pool Flavanoles	10	149.7	6.17±19.74
	100	134.48	15.71±18.10
α y β amirinas	100	78.65	50.7±17.41*
Canofilol	10	164.7	-3.24±8.78
	100	133.4	16.36±14.86
Canofilal	100	127.64	20.0±13.8
Friedelina	100	124.48	21.98±12.49
(-)epicatequina	10	247.76	-55.24±64
	100	44.51	72.10±12.72*
(-)epicat. acetilada	100	52.36	67.18±10.51*
(-)epicat. metilada	100	49.52	68.96±9.19*
β-sitosterol	100	22.86	85.67±6.29*
β-D-Glucositosterol	100	10.51	93.41±2.17*
SSB	90	104.47	34.52±19.82

*p<0.05

El SSB (90 mg/kg) mostró un 34.5 % de gastroprotección, mientras que la actividad gastroprotectora de las fracciones HE-A a HE-D, a una dosis similar (100 mg/kg) fue mayor del 60 % (tabla 4). El análisis cromatográfico de la fracción HE-A, reveló que la fracción esta constituida por 6 compuestos mayoritarios; el primero de ellos se obtuvo por la elución de la columna con hexano-cloroformo (98:2) y se identificó como la friedelina por comparación de sus propiedades físicas y espectroscópicas (Apéndice) con aquellas de una muestra auténtica. La friedelina a una dosis de 100 mg/kg presentó una gastroprotección de 21.9% (tabla 4). El segundo compuesto de esta fracción se obtuvo en una polaridad de hexano-cloroformo (97:3) y se identificó como canofilal por sus propiedades físicas, espectroscópicas (Apéndice) y por comparación con una muestra auténtica. El canofilal a una dosis de 100 mg/kg causó una gastroprotección del 20% (tabla 4). El efecto gastroprotector de la friedelina y del canofilal no fueron estadísticamente diferentes al control. El tercero y cuarto de los constituyentes se obtuvieron como una mezcla en una polaridad de hexano-cloroformo (95:5) y se identificaron como α y β amirinas por comparación con muestras auténticas y por sus espectros de RMN-¹H (Apéndice). Esta mezcla a una dosis de 100 mg/kg indujo una gastroprotección del 50.7% (P<0.05). El quinto constituyente obtenido de la fracción HE-A se obtuvo de la elución de la columna cromatográfica con hexano-cloroformo (9:1), y se identificó como canofilol por sus propiedades físicas, espectroscópicas (Apéndice) y por comparación con una muestra auténtica. El canofilol mostró a una dosis de 100 mg/kg una gastroprotección de 16.3%. El sexto constituyente

se obtuvo de la elución de la columna con hexano-cloroformo (85:15) y se identificó como β -sitosterol por comparación con una muestra auténtica. El β -sitosterol a una dosis de 100 mg/kg ocasionó un efecto gastroprotector del 85.6% ($P < 0.05$). La comparación de los datos de la actividad gastroprotectora de la fracción y de los constituyentes de la misma indican que los compuestos β -sitosterol y la mezcla de α y β amirinas son los que le confieren dicha actividad. Los demás constituyentes de acuerdo al análisis estadístico realizado no contribuyen significativamente con la actividad biológica.

Considerando que en un estudio previo de la cancerina se reportó la presencia diversos alcaloides, entre ellos el denominado Hipocrateína I (Calzada *et al.*, 1990) se procedió a monitorear la presencia de alcaloides en los cuatro grupos de fracciones primarias, empleando como referencia una muestra auténtica de Hipocrateína I.

El análisis cromatográfico realizado, evidenció la presencia de la Hipocrateína I en la fracción HE-B; en consecuencia, se procedió a obtener el crudo alcaloideo a partir de esta fracción mediante una partición ácido-base. La fracción HE-B, presentó una actividad gastroprotectora relevante (tabla 4); sin embargo la cantidad obtenida no fue suficiente para llevar a cabo los experimentos por lo que se decidió trabajar con la fracción HE-C.

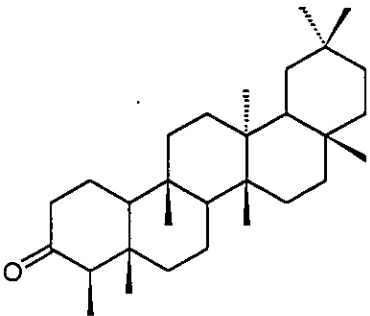
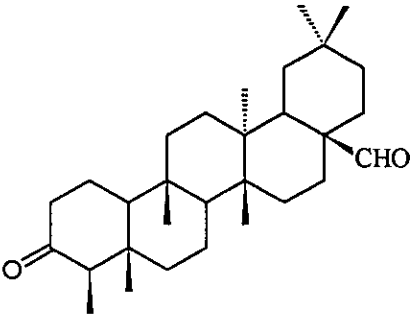
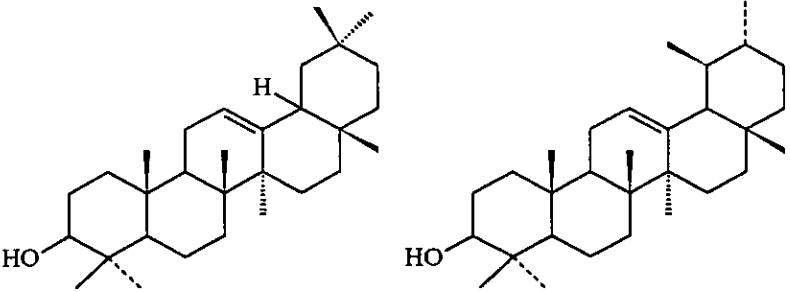
El análisis cromatográfico de la fracción HE-C, permitió aislar 2 compuestos; el primero de ellos se obtuvo de la elución de la columna con hexano-cloroformo (4:6) y se identificó como el β -D-glucositosterol por sus propiedades físicas, espectroscópicas (Apéndice) y se confirmó por comparación con una muestra

auténtica. El β -D-glucositolsterol mostró a una dosis de 100 mg/kg una gastroprotección de 93.4% ($P < 0.05$). El segundo compuesto de la fracción se obtuvo en una polaridad de hexano-cloroformo (3:7) y se identificó como la (-)-epicatequina por sus propiedades físicas y espectroscópicas (Apéndice) y por comparación con una muestra auténtica. La (-)-epicatequina mostró a una dosis de 100 mg/kg una gastroprotección de 72.1%. La comparación de los datos de la actividad gastroprotectora de la fracción y de los constituyentes de la misma, indican que los compuestos β -D-glucositolsterol y la (-)-epicatequina son los que le confieren dicha actividad, por lo que la actividad biológica demostrada por la fracción HE-C puede deberse al efecto de ambos compuestos.

La fracción HE-D presentó la menor actividad gastroprotectora de las cuatro fracciones. El análisis cromatográfico de esta fracción indicó una alta complejidad y dificultad para separar a sus constituyentes, por lo que no fue posible evaluar la actividad gastroprotectora de compuestos puros de esta fracción.

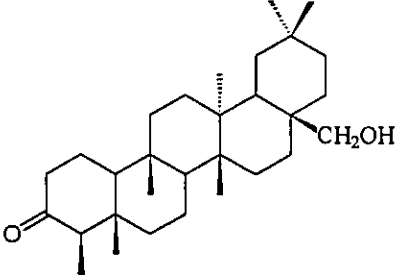
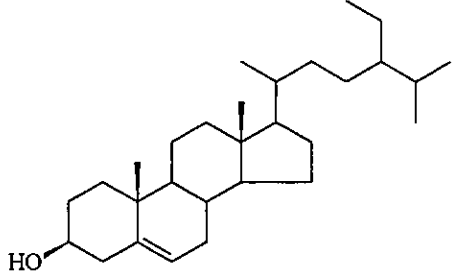
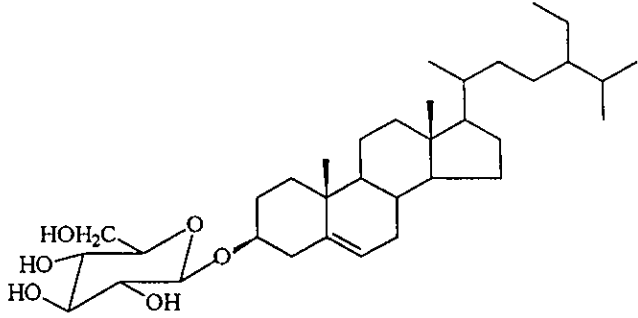
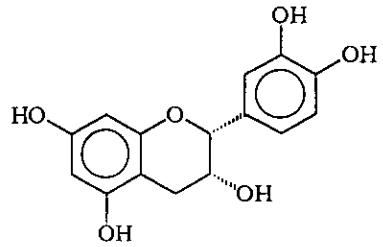
En el cuadro 5 se presentan las estructuras y rendimientos de los metabolitos secundarios aislados de la especie *Hippocratea excelsa* en este trabajo.

Cuadro 5. Metabolitos secundarios aislados de la especie *Hippocratea excelsa*.

COMPUESTO	RENDIMIENTO* (%)
 <p data-bbox="489 635 679 670">FRIEDELINA</p>	0.0033
 <p data-bbox="494 1075 674 1109">CANOFILAL</p>	0.0021
 <p data-bbox="309 1520 468 1555">β AMIRINA</p> <p data-bbox="705 1520 863 1555">α AMIRINA</p>	0.0032

* Rendimiento con base en planta seca.

Cuadro 5. Metabolitos secundarios aislados de la especie *Hippocratea excelsa*.
(Continuación)

METABOLITO	RENDIMIENTO* (%)
 <p>CANOFIOL</p>	0.0064
 <p>β-SITOSTEROL</p>	0.0301
 <p>β-D-GLUCOSITOSTEROL</p>	0.0107
 <p>(-)-EPICATEQUINA</p>	0.0107

Uno de los compuestos activos fue la β amirina, dicho triterpeno comparte características estructurales (núcleo labdano) con el ácido oleanólico (figura 1) y para el cual existe una patente como agente antiulceroso, y que ejerce su acción gastroprotectora, mediante el restablecimiento de los niveles de prostaglandinas (Lewis y Hanson, 1991). Considerando esto, se puede suponer que la β amirina ejerce su acción gastroprotectora mediante el mismo mecanismo. De la misma manera la α amirina comparte características estructurales (núcleo ursano) con el ácido ursólico (figura 1), para el cual, se ha demostrado la actividad gastroprotectora en los modelos de inducción de la lesión por estrés y en el modelo de Shay (Lewis y Hanson, 1991).

Considerando las semejanzas estructurales entre los compuestos con núcleo ursano (α amirina y ác. ursólico) y los compuestos con núcleo oleanano (β amirina y ác. oleanólico) se puede considerar que el mecanismo por el cual la α amirina y el ác. ursólico ejercen su acción gastroprotectora sea la misma, es decir, mediante el restablecimiento de los niveles de prostaglandinas.

Los triterpenos α y β amirinas presentan una gastroprotección del 50.7% en comparación con los triterpenos canofilol, canofilal y friedelina, los cuales presentan una actividad menor al 22%. Cabe notar que la α amirina y la β amirina a diferencia de los triterpenos canofilol, canofilal y friedelina poseen un grupo hidroxilo en el carbón número tres, mientras que estos últimos tienen un grupo carbonilo en la posición número tres. Estos datos indican que tal vez es necesario la presencia un grupo hidroxilo libre en dicha posición, para que esté

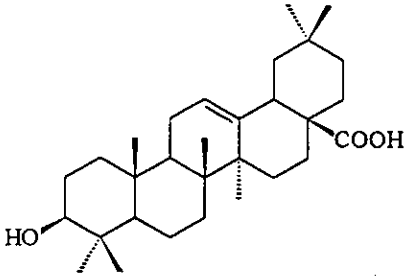
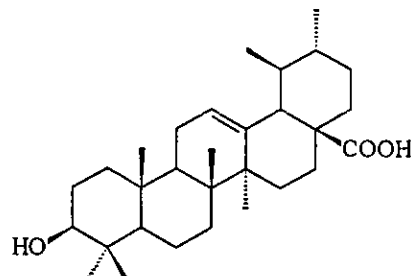
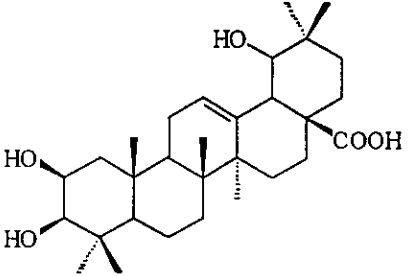
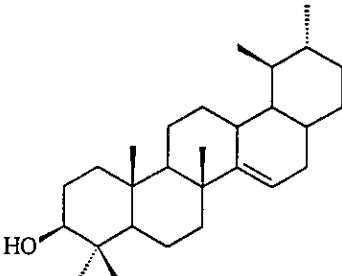
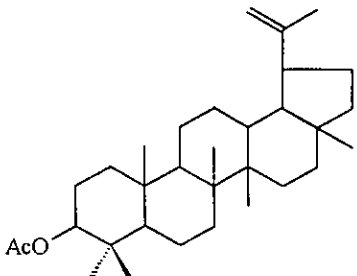
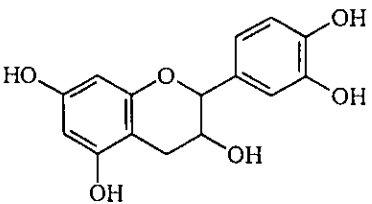
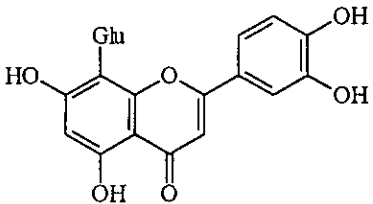
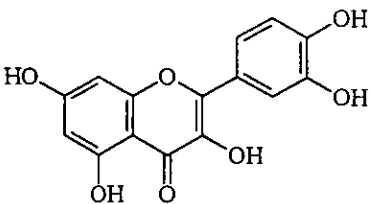
 <p>Acido oleanólico</p>	 <p>Acido ursólico</p>
 <p>Acido serícico</p>	 <p>Taraxerol</p>
 <p>Acetato de lupeól</p>	 <p>(+) Catequina (2R, 3S) (+)3-Cianidanol (2S, 3R)</p>
 <p>8-glucósido de hipolaetina</p>	 <p>Quercetina</p>

Figura 1. Metabolitos aislados de plantas con actividad antiulcerosa

presente la actividad gastroprotectora. Esto último se puede relacionar con los compuestos triterpénicos a los cuales se les ha comprobado la actividad gastroprotectora, los cuales tienen en la posición 3 un hidroxilo libre como en el caso del ácido oleanólico, el ácido ursólico, el ácido serícico (figura 1) o un derivado del hidroxilo en la posición número 3 como la carbenoxolona, el acetato de lupeol (figura 1) y el glucósido del ácido serícico (Lewis y Hanson, 1991).

Este mismo patrón se presenta con el esteroide taraxerol (figura 1) (Lewis y Hanson, 1991), con el que se puede relacionar la actividad del β -sitosterol y su glucósido, quienes presentaron una buena actividad gastroprotectora (mayor del 85%).

Por otro lado la (-)-epicatequina es un flavonoide que demostró actividad gastroprotectora en el modelo de inducción de la lesión con etanol y que no inhibe la secreción gástrica (tabla 5), esto aunado con la similitud estructural (estereoisomero 2S,3R) que presenta con el (+)-3-cianidanol (figura 1), cuyo mecanismo de gastroprotección es mediante la inhibición de la histidina descarboxilasa, nos hace pensar que el mecanismo por el cual la (-)-epicatequina ejerce su acción podría ser mediante la inhibición de la histidina descarboxilasa, pero debido a que no presentó efecto alguno sobre la secreción gástrica este mecanismo de acción es poco probable, ya que la histamina es el principal regulador de la secreción gástrica y si la (-) epicatequina actuara vía inhibición de la histidina descarboxilasa, la secreción gástrica debería disminuir. Un posible mecanismo de acción por el cual ejerce su actividad gastroprotectora podría ser a través del incremento de los niveles de

prostaglandinas, ya que se tiene como referencia que existen flavonoides que incrementan los niveles de las prostaglandinas como es el caso de la 8-glucósido de hipolaetina (figura 1) (Lewis y Hanson, 1991).

Tabla 5. Efecto de la (-)epicatequina sobre la inhibición de la secreción gástrica.

Tratamiento ^a	n	Volumen gástrico (ml)	Acido liberado (meq/ml)
Blanco	8	7.6428±0.7846	0.1071±0.004
(-)epicatequina	8	6.5±0.8017	0.1063±0.006

^a Administración de los tratamientos por vía oral a una dosis de 100 mg/ kg.

Los valores representan las medias ± E.S.

Por otra parte está publicado que los flavonoides requieren la presencia de 2 grupos hidroxilos *orto* como en el caso de la quercetina (figura 1), para que presente actividad gastroprotectora (Lewis y Hanson, 1991). Sin embargo en el presente estudio se generaron los derivados metilados y acetilados de la (-)epicatequina en las posiciones 5,7,3',4' y 3,5,7,3',4' respectivamente, los cuales mostraron retener la actividad en una magnitud similar que la (-)epicatequina (tabla 4), por lo que se puede inferir que no es necesario que estén libres los grupos hidroxilos *orto* en el anillo B, ni tampoco en las posiciones 3, 5 y 7.

VI. CONCLUSIONES

Con base a los resultados obtenidos se llegó a las siguientes conclusiones:

1. El fraccionamiento del extracto metanólico biológicamente activo de la corteza de la raíz de *Hippocratea excelsa* permitió el aislamiento y caracterización de los siguientes compuestos: la friedelina, el canofilol, el canofilal, el β -sitosterol, el β -D-glucositosterol, la (-)epicatequina y la mezcla binaria de α amirina y β amirina.
2. Se valoró la actividad gastroprotectora de los metabolitos aislados del extracto metanólico, de los cuales el β -sitosterol, el β -D-glucositosterol y la (-) epicatequina demostraron tener un efecto gastroprotector considerable.
3. Los derivados generados de la (-)epicatequina mostraron tener el mismo efecto que el compuesto libre.
4. La mezcla binaria de α amirina y β amirina demostró tener un efecto gastroprotector considerable.
5. La (-)epicatequina demostró no tener efecto sobre la inhibición de la secreción gástrica.

VII. PERSPECTIVAS

1. Se sugiere continuar el estudio fitoquímico de las fracciones de mayor polaridad para determinar de manera integral el contenido metabólico secundario de la especie *Hippocratea excelsa*.
2. Establecer mediante las evaluaciones adecuadas los posibles mecanismos de acción como agentes antiulcericos de los metabolitos β -sitosterol, β -D-glucositolsterol y (-)epicatequina obtenidos en la presente investigación.
3. Obtener mayor cantidad de la mezcla de α y β amirina para separarlos y poder efectuar los experimentos para determinar su actividad gastroprotectora de cada uno de ellos por separado.
4. Efectuar la separación de los constituyentes de la fracción alcaloidea con el fin de obtener a los alcaloides con actividad gastroprotectora.

VIII. BIBLIOGRAFIA

- Bays, D. E. y Finch, H. (1990). Inhibitors of Gastric Acid Secretion. *Natural Products Reports*. 409-445.
- Bertaccini, G. y Coruzzi, G. (1985). Pharmacology of the treatment of peptic ulcer disease. *Dig. Dis. Sci.* **30** (11 suppl.).
- Bettarello, A. (1985). Antiulcer the therapy past to present. *Dig. Dis. Sci.* **30** (11suppl.), 365-425.
- Braga, P. C. (1991). Drugs In Gastroenterology, Raven Press, New York, 57-60 y 199-201.
- Burland, W. L., Duncam, W. A. M., y Hesselbo, T. (1975). Pharmacological evaluation of cimetidine, a new histamine H₂-receptor antagonist in healthy man. *Brit. Clin. Pharmacol.* **2**, 481-486.
- Brunton, L.L. (1996). Agents of control of gastric acidity and treatment of peptic ulcers. In, *Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics*, ed. por ,pp. 901-915. Mc Graw-Hill, New York.
- Calzada, F., Mata, R., Diaz, E., y Toscano, R. A. (1990). Chemical studies on Mexican plants used in traditional medicine, XV. Sesquiterpene evoninoate alkaloids from *Hippocratea excelsa*. *Journal of Natural products.* **53**, 1212-1219.
- Calzada, F., Mata, R., López, R., Linares, E., Bye, R., Barreto, V. M., y Del Rio, F. (1991). Friedelanes and Triterpenoid Quinone Methides from *Hippocratea excelsa*. *Planta Med.* **57**, 194-195.

- Calzada, F., y Mata, R. (1995). Hippocrateine III, a sesquiterpene alkaloid from *Hippocratea excelsa*. *Phytochemistry*. **40**, 583-585.
- Cambielli, M., y Civardi, R. (1991). H₂ Receptor Antagonists. Cimetidine. In, *Drugs in Gastroenterology*, ed. por P. C. Braga, M. Guslandi y A. Tittobello, pp. 90-115. Raven Press, New York.
- Campolli-Richards, D. M., y Clissold, S. P. (1986). Famotidine. Pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and a preliminary review of its therapeutic use in peptic ulcer disease and Zollinger-Ellison syndrome. *Drugs*. **32**, 197-221.
- Canali, A., Carosino, G., y Daniotti, S. (1991). Roxatidine. In, *Drugs in Gastroenterology*, ed. por P. C. Braga, M. Guslandi y A. Tittobello, pp. 144-157. Raven Press, New York.
- Carter, D. C. (1981). Fundamentos científicos de Gastroenterología, Interamericana, pp. 364-378.
- De Vicentiis, A., Bartosek, I., y Vargiu, G. (1991). Alginate. In, *Drugs in gastroenterology*, ed. por P. C. Braga, M. Guslandi, y A. Tittobello, pp. 256-260. Raven Press, New York.
- Espejo, G. O. y Noguez, N. A. (1990). Fármacos utilizados en el tratamiento de las úlceras pépticas. *Rev. Mex. Ciencias Farm.* **21** (3), 33-38.
- Ganong, F. W. (1992). Fisiología Médica, 13ª ed. El Manual Moderno, México.
- Glavin, G. B. y Szabo, S. (1992). Experimental gastric mucosal injury: Laboratory models reveals mechanisms of pathogenesis and new therapeutic strategies. *FASEB J.* **6**, 825-831.

- Gorbach, S. L. (1990). Bismuth Therapy in Gastrointestinal Diseases. *Gastroenterology*. **99**, 863-887.
- Guslandi, M. y Tittobello, A. (1984). Mucus-stimulating properties of sucralfate. In, *Antiulcer drugs experimental and clinical evaluation*, ed. por A. Bertelli, y M. Del Tacca, pp. 217-221. Bioscience Ediprint, Geneva.
- Guth, P. H. (1973). Experimental production of peptic ulcer. *Gastroenterology*. **64**, 1187-1188.
- Harborne, J. B. (1984). Phytochemical methods. In, *A guide to modern techniques of plant analysis*. 2^a ed. Chapman and Hall.
- Holzer, P. y Sametz, W. (1986). Gastric mucosal protection against ulcerogenic factors in the rat mediated by capsaicin-sensitive afferent neurons. *Gastroenterology*. **91**, (4): 975-978.
- Konturek, S. J. (1988). Role of epidermal growth factor in gastroprotection and ulcer healing. *Scand. J. Gastroenterol.* **23**, 129-133.
- Konturek, S. J. (1988). Mechanism of gastroprotection. *Scand. J. Gastroenterol.* **25**, (174): 15-28.
- Konturek, S. J., Brozowski, T., Drozdowicz, D., y Nauret, Ch. (1990). Role of intragastric pH in cytoprotection by antiacids in rats. *European J. Pharmacol.* **176**, 187-195.
- Lanza, F. L. (1984). Endoscopic studies of gastric and duodenal injury after the use of ibuprofen, aspirin and other non-steroidal anti-inflammatory agents. *Am. J. Med.* **77**, 19-24.

- Lewis, D., y Hanson, P. (1991). Antiulcer drugs of plant origin. *Progress in Medicinal Chemistry*. **28**, 201.
- Ligumsky, M., Kramski, F., y Rochmilewitz, D. (1984). Sucralfate stimulation of gastric PGE synthesis: posible mechanism to explain its effective cytoprotective mechanism. *Gastroenterology*. **87**, 1164.
- Lipsy, R. J., Fermerty, B., y Fagan, T. C. (1990). Clinical review of histamine H₂ –receptor antagonist. *Arch. Intern. Med.* **150**, 745-751.
- Lowery, C. (1993). Reagent Chemicals. American Chemical Society specification, Editores, Washington, D. C. 90-91.
- Magous, R. y Bali, J.(1983). Evidence the proglumide and benzotrit antagonize secretagogue stimulation of isolated a gastric parietal cells. *Regulatory peptides*. **73**, (3): 233-241.
- Mata, R.(1993). Chemical Studies and Biological Aspects of some Mexican Plants used in Traditional Medicine. In, *Phytochemical Potential of Tropical Plants*, ed. por K. R. Downum, J. T. Romeo y H. A. Stafford, pp. 41-64. Plenum Press, New York.
- Mills, J. G., Castelli, G., Uleris, S., y Wood, J. R. (1991). Ranitidine. In, *Drugs in Gastroenterology*, ed. por. P. C. Braga, M. Gusaldi, y A. Tittobello, pp. 116-133. Raven Press. New York.
- Nariñan, E. (1994). Ensayo biodirigido de la acción citoprotectora del extracto metanólico de *Hemiangium excelsum* (Cancerina). Tesis de licenciatura. FES Zaragoza. UNAM.

- Navarrete, A., Niño, D., Reyes, B., Sixtos, C., Aguirre, E., y Estrada, E. (1990).
On the hypocholesteremic effect of *Eryngium heterophyllum*. *Fitoterapia*.
61,(2): 182-184.
- Navarrete, A., Reyes, B., Sixtos, C., Silva, A., Zamora, R., Cedillo, E., y Estrada, E. (1989). Evaluación farmacológica de *Euphatorium aschembornianum* "Axihuitl" en la úlcera experimental. *II Seminario Mesoamericano de Etnofarmacología y II Congreso Nacional de Medicina Vegetal Popular*, Universidad de Costa Rica, 53-55.
- Navarrete, A., Reyes, B., Silva, A., Sixtos, C., Islas, V., y Estrada, E. (1990).
Evaluación farmacológica de la actividad antiulcerosa de
Amphythergium adstringens (Cuachalalate). *Rev. Mex. Ciencias Farm.*
21, (3):28-32.
- Navarrete, A., Sánchez, R., Galicia, R., Reyes, B., y Estrada, E. (1992). Plantas medicinales empleadas en el tratamiento de úlcera péptica en México.
Etnobotánica'92. 20-26 de septiembre, Cordoba, España, 490.
- Navarrete, A., Galicia, R., Sánchez, R., Reyes, B., y Estrada, E., (1992). Studies on the Anti-ulcer activity of *Croton fragilis* in rats. *52nd International Congress of F. I. P.* Abstracts, 13-19 september, Lyon, France, 108.
- Navarrete, A., Martínez-Urbe, L. S., y Reyes, B. (1998). Gastroprotective activity of the stem bark of *Amphiptherygium adstringens* in rats. *Phytotherapy research*. **12**,1-4.

- O'Brien, P., Schultz, C., Gannon, B., y Browning, J. (1986). Protective effects of the synthetic prostaglandin enprostil on the gastric microvasculature after ethanol injury in the rat. *Am. J. Med.* **81**(suppl. 2A): 12-17.
- Palacios, J., Mata, R., y López, R. (1989). Hippocratea excelsa (Hippocrateaceae) a new source of trans polyisoprene. *Economyc. Botany.* **43**, (4): 508-509.
- Palmer, R. H., Frank, W. O., y Karlstadt, R. (1990). Maintenance therapy of duodenal ulcer with H₂-receptor antagonists-a meta-analysis. *Aliment. Pharmacol. Therap.* **4**, 283-294.
- Pampanara, F. y Battaglia, A. (1991). Nizatidine. In, *Drugs in Gastroenterology*, ed. por. P. C. Braga, M. Guslandi, y A. Tittobello, pp. 134-143. Raven Press. New York.
- Parmar, N. S., Tariq, M., Alyhya, M. A., Ageel, A. M., y Alsaïd, M. S. (1986) Evaluation of *Aloe vera* leaf exudate and gel for gastric and duodenal antiulcer activity. *Fitoterapia.* **57** (5).
- Pavia, D., Lampman, G., Kriz, G., y Engel, R. (1995). Organic laboratory techniques: A microscale approach. Sanders College Publishing, U. S. A., p 345.
- Pérez, R. M., Pérez, S., Zavala, M. A., y Salazar, M. (1995). Anti-inflammatory activity of the bark of *Hippocratea excelsa*. *Journal of ethnopharmacology.* **47**, 85-90.
- Piatti, G. (1991). Famotidine. In, *Drugs in Gastroenterology*, ed. por. P. C. Braga, M. Guslandi, y A. Tittobello, pp. 158-168. Raven Press. New York.

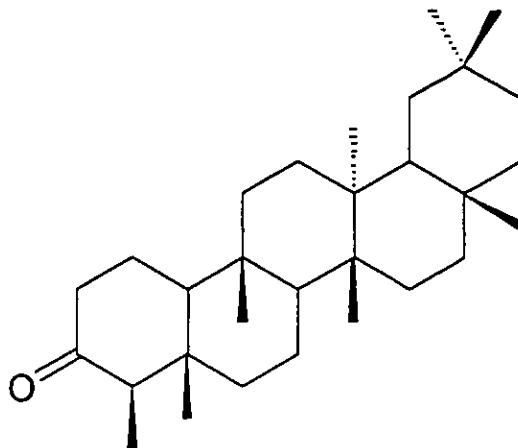
- Rama, B. V. (1996). Anticholinergic drugs. In, *Burger's medicinal chemistry and drug discovery*, ed. por. Manfred. E. Wolff, pp. 59-71. 5ª ed. John Wiley and Sons.
- Ress, W. D. W. (1991). Mechanisms of Gastroduodenal Protection By Sucralfate. *Am. J. Med.* **91**(Suppl. 2A), 58S-63S.
- Robert, A., Nezamis, J., Lancater, C., y Hanchar, A. (1979). Cytoprotectio by prostaglandins in rats. *Gastroenterology.* **77**, 433-443.
- Rodrigo, L., Viver, J., y Conchillo, F. (1989). A multicenter, randomized, double-blind study comparing famotidine with cimetidine in the treatment of active duodenal ulcer disease. *Digestion.* **42**, 86-92.
- Salena, B. y Hunt, R., (1987). The limitations of current therapy in peptic ulcer disease. *Clin. Env. Med.* **10**, (3): 171-177.
- Sánchez, S. R. (1991). Evaluación de la actividad antiulcerosa de *Mentha pulegium* (Ticuiliche) y *Hemiangium excelsum* (Cancerina) en ratas Wistar. Tesis ENEP ZARAGOZA. UNAM.
- Shay, D. H., Sun, d. C. H., y Gruenstein, M. A. (1954). Quantitative methods for measuring spontaneous gastric secretion in the rat. *Gastroenterology.* 906-917.
- Shorrock, C. J., Prescott, J. T., y Rees, D. W. (1990). The effects of Indometacin on gastroduodenal morphology and mucosal pH gradient in the healthy human stomach. *Gastroenterology.* **99**, 334-339.
- Smith, A. C. (1940). The American species of Hippocrateaceae. *Brittonia.* **3**, (3): 410-417.

- Smith, H. L. y Their, O. S., (1989). Fisiopatología. Principios biológicos de la enfermedad. 2ª.ed. Ed. Panamericana, Buenos Aires.
- Sodema, A. W. y Sodema, M. T. (1984). Fisiopatología clínica. Mecanismos de producción de los síntomas. 6ª.ed. Ed. Interamericana, México, D. F.
- Stalnikowicz-Darasi, R. (1989). H₂ antagonists in the treatment of reflux esophagitis: a critical analysis. *Am. J. Gastroenterol.* **84**, 245-248.
- Standley, C. P. y Steyermark, A. J. (1949). Flora de Guatemala Fieldiana Botany. **24**. Parte IV. Ed. Chicago Natural History Museum, pp. 220-221.
- Szabo, S. y Golberg, I. (1990). Experimental pathogenesis: drugs and chemical lesions in the gastric mucosa. *Scand J. Gastroenterol.* **25**, (Suppl 174): 1-8.
- Takagi, T., Takeda, M., y Fujihara, A. (1983). General pharmacological properties of a new potent H₂ blocker, Famotidine. *Pharmacometr.* **26**, 599-611.
- Tariq, M., Parma, N., y Ageel, A. (1987). Gastric and duodenal antiulcer and cytoprotective effects of proglumide in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **441**, (2): 602-607.
- Thomas, J. M. y Misiewicz, G. (1984). Histamine H₂-receptor antagonists in the short and longterm treatment of duodenal ulcer. *Clin. Gastroenterol.* **13**, 501-541.
- Thomson, A. y Mohachai, V. (1987). Pharmacological management of patients with peptic ulcer disease: prospects for the late 1980's. *Clin. Inv. Med.* **10**, (3): 152-170.
- Touchstone, J. C. (1992). Practice of thin layer chromatographic. John Wiley and Sons, Inc. U. S. A., p 157.

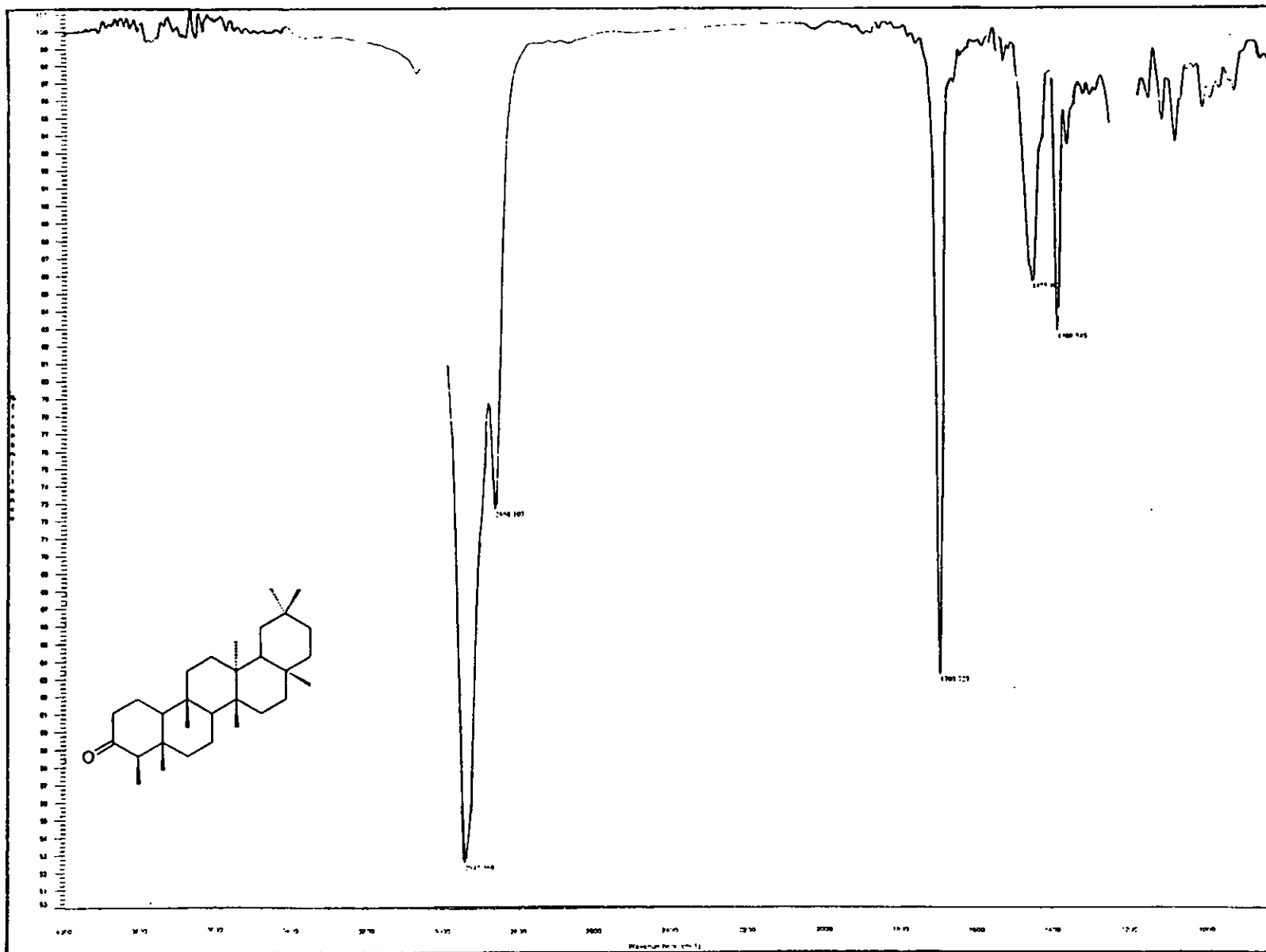
- Valadez, N. S. (1989). Síndromes gastroenterológicos más frecuentes en México. *Etiofisiopatogenia*. ENEP Iztacala. UNAM.
- Villalobos, P. J. (1985). Gastroenterología. Vol. I. 2ª ed. Ed. Méndez Oteo, México.
- Zuccari, G., Lumachi, B., y Scuri, R. (1986). Oral hexaprazol blocks severe gastric lesions by topical acetylsalicylic acid in hydrochloric acid. 3rd *Internant. Congress on ulcer therapy*, Ischia (Italy), Abstract 140.
- Zuccari, G., Clavenna, G., y Sala, A. (1990). Prostaglandins and gastric mucosal protection by esaprazole in rats. *Eur, J. Pharmacol.* **187**, 19-25.

IX. APENDICE

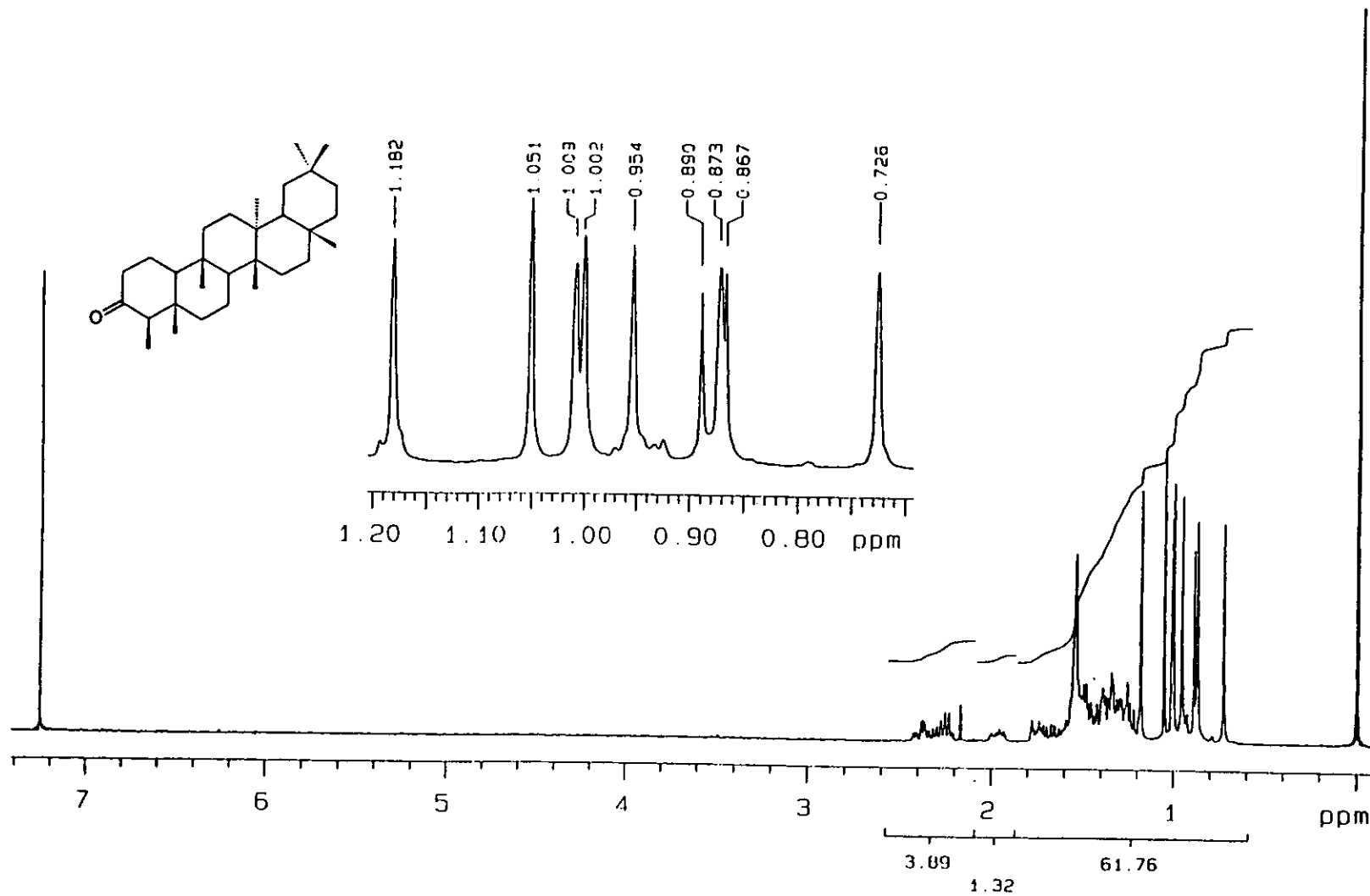
Constantes físicas y espectroscópicas de la friedelina.



IR, ν_{max} (KBr) cm^{-1} (Espectro 1):	2945, 1703
RMN- ^1H δ (300 Mhz, CDCl_3), ppm (Espectro 2):	0.72 (s, CH_3), 0.873 (s, CH_3), 0.95 (s, CH_3), 1.009 (s, CH_3), 1.002 (s, CH_3), 1.051 (s, CH_3), 1.182 (s, CH_3), 0.878 (d, $\text{J}=6.9$ Hz, H-23)
p.f.	258-259°C

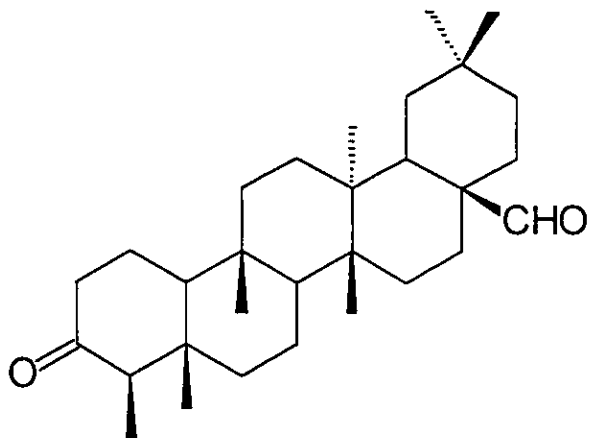


Espectro 1. Espectro de IR de la friedelina.

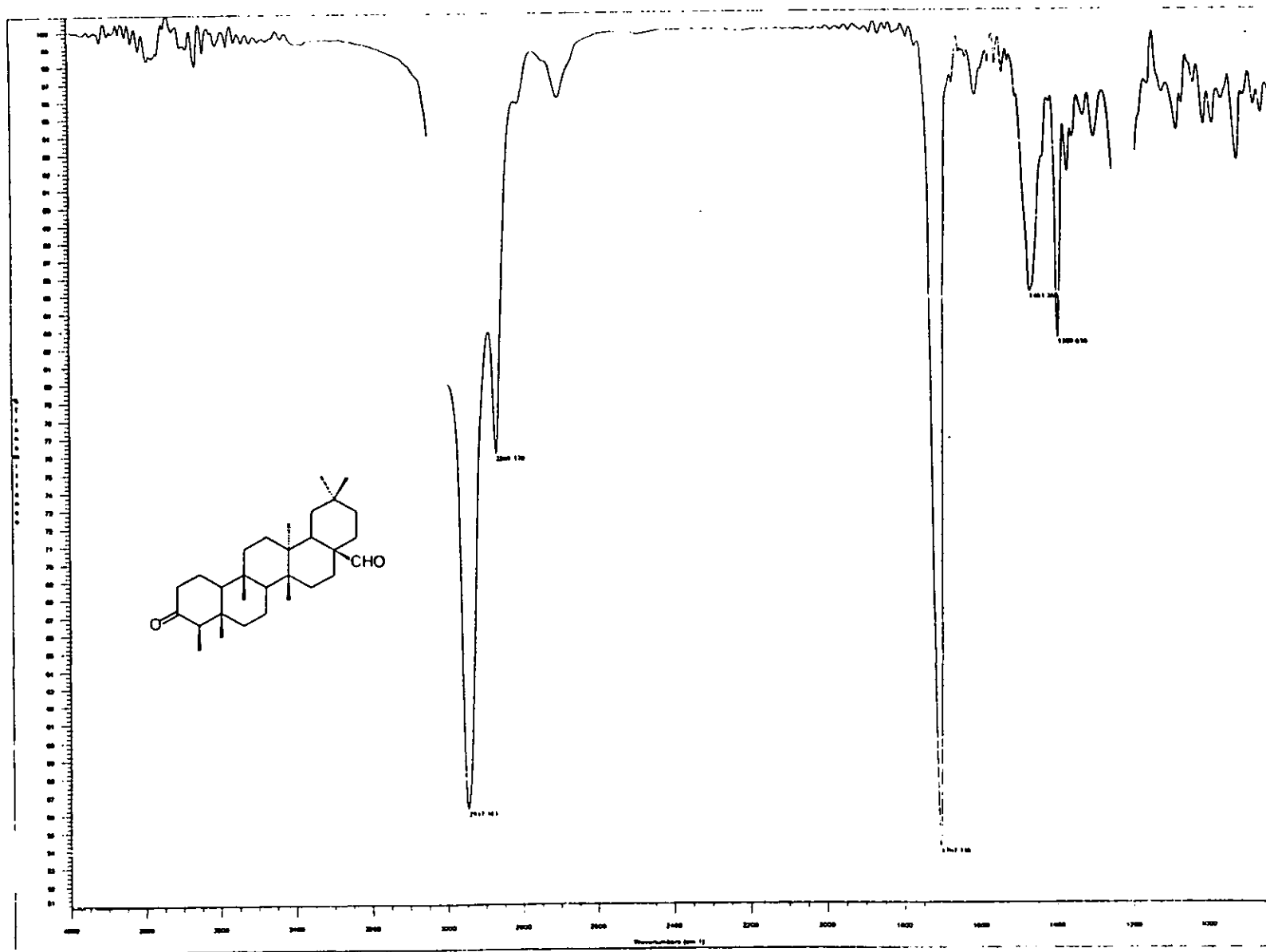


Espectro 2. Espectro de RMN-1H de la friedelina.

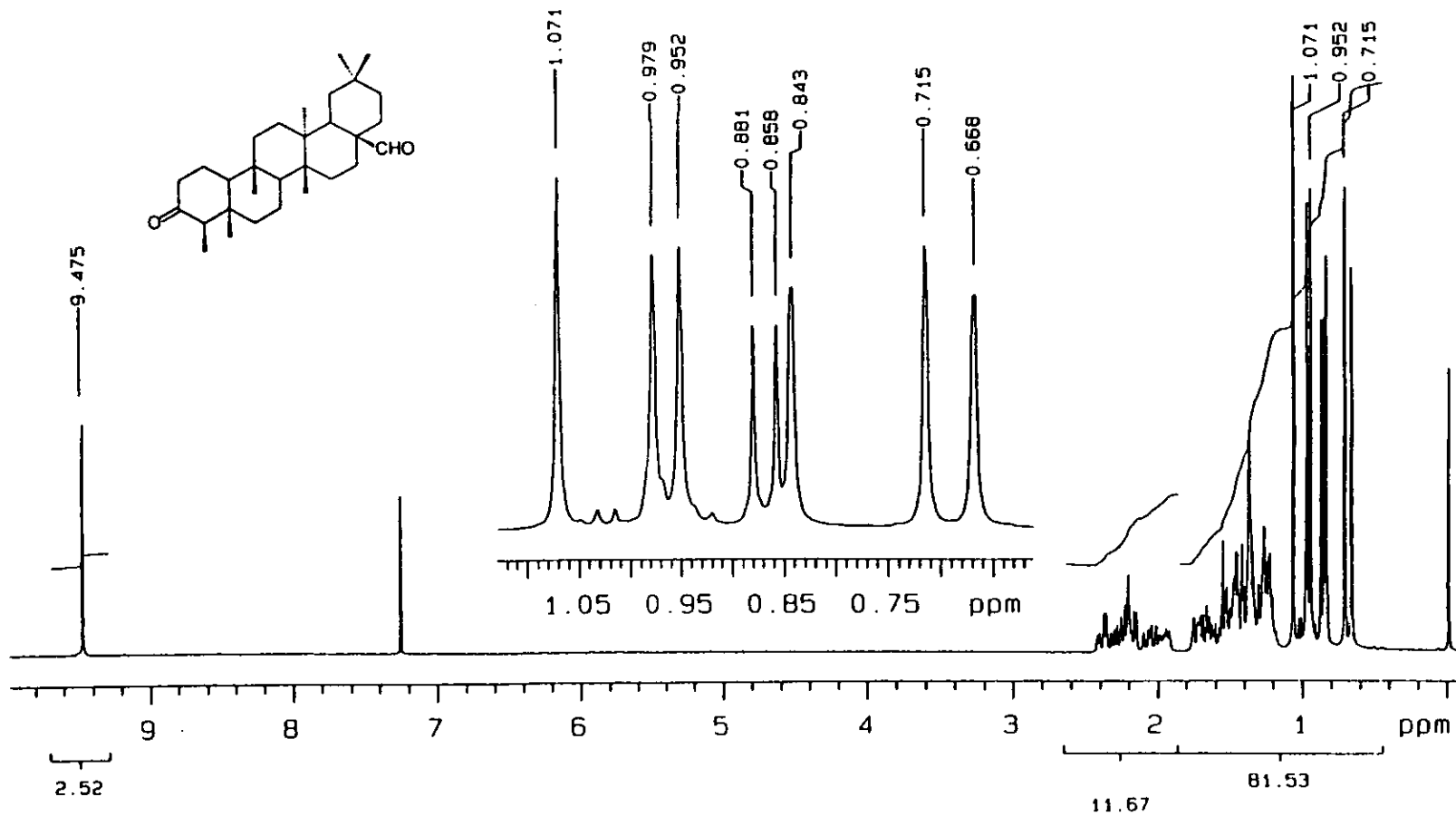
Constantes físicas y espectroscópicas del canofilal.



IR, ν_{max} (KBr) cm^{-1} (Espectro 3):	2947, 2785, 1707, 1463 y 1389
RMN- ^1H δ (300 Mhz, CDCl_3), ppm (Espectro 4):	9.47 (s, H-28), 1.071(s, CH_3), 0.979 (s, CH_3), 0.952 (s, CH_3), 0.843 (s, CH_3), 0.715 (s, CH_3). 0.668 (s, CH_3), 0.869 (d, $\text{J}=6.9$ Hz, H-23)
p.f.	263-265°C

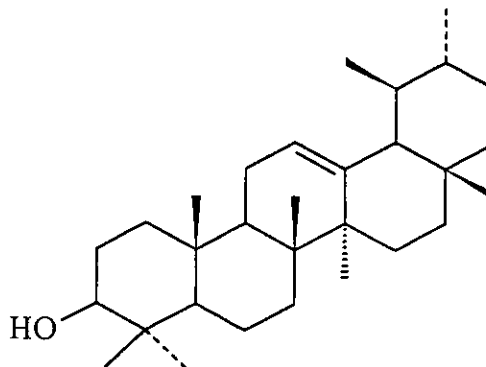
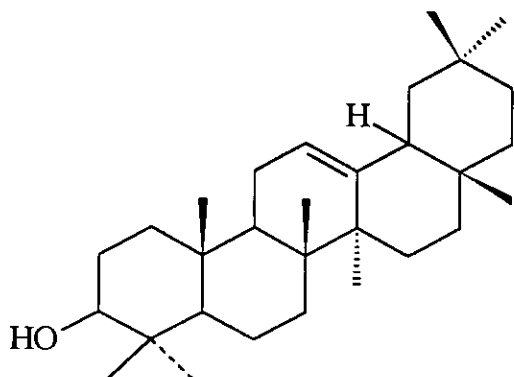


Espectro 3. Espectro de IR del canofial.

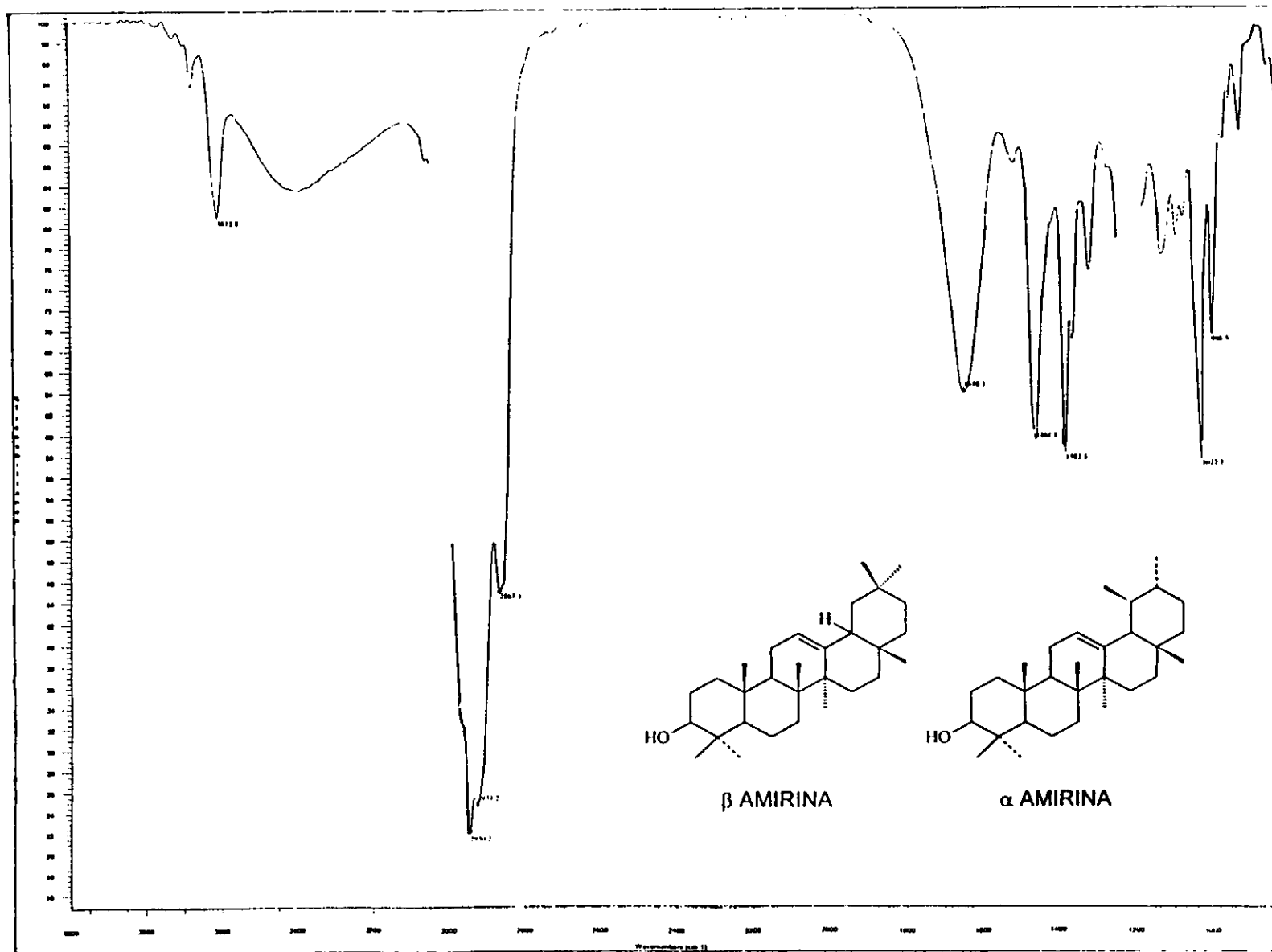


Espectro 4. Espectro de RMN-¹H del canofilal.

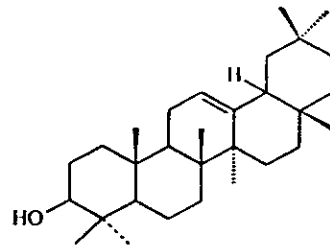
Constantes físicas y espectroscópicas de la α -amirina y la β -amirina.



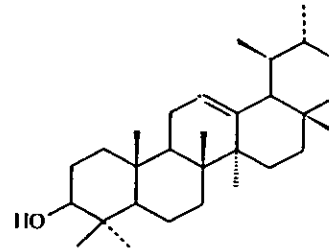
IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (Espectro 5):	3612, 2950, 1648, 1464, 1382, 1027
RMN- ^1H δ (300 MHz, CDCl_3), ppm (Espectro 6):	3.22 (dd, $J=10$ y $J=5.1$, H-3), 5.13 (T, $J=3.9$, H-12), 5.18 (T, $J=3.6$, H-12)
RMN- ^{13}C δ (75 MHz, CDCl_3), ppm (Espectro 7):	<p>α amirina</p> <p>38.58 (C-1), 27.26 (C-2), 79.03 (C-3), 39.6 (C-4), 55.19 (C-5), 18.38 (C-6), 32.9 (C-7), 40 (C-8), 47.7 (C-9), 36.91 (C-10), 23.36 (C-11), 124.4 (C-12), 139.5 (C-13), 42 (C-14), 26.63 (C-15), 27.26 (C-16), 33.7 (C-17), 59.1 (C-18), 39.6 (C-19), 39.6 (C-20), 31.25 (C-21), 41.5 (C-22), 28.12 (C-23), 15.58 (C-24), 15.59 (C-25), 16.82 (C-26), 23.28 (C-27), 28.75 (C-28), 17.45 (C-29), 21.38 (C-30).</p> <p>β amirina</p> <p>38.78 (C-1), 27.26 (C-2), 79.03 (C-3), 39.6 (C-4), 55.19 (C-5), 18.38 (C-6), 32.6 (C-7), 39.8 (C-8), 47.6 (C-9), 36.97 (C-10), 23.53 (C-11), 121.7 (C-12), 145 (C-13), 41.7 (C-14), 26.16 (C-15), 26.96 (C-16), 32.5 (C-17), 47.2 (C-18), 46.84 (C-19), 31.09 (C-20), 34.74 (C-21), 37.16 (C-22), 28.12 (C-23), 15.58 (C-24), 15.5 (C-25), 16.82 (C-26), 25.97 (C-27), 28.39 (C-28), 33.3 (C-29), 23.9 (C-30).</p>



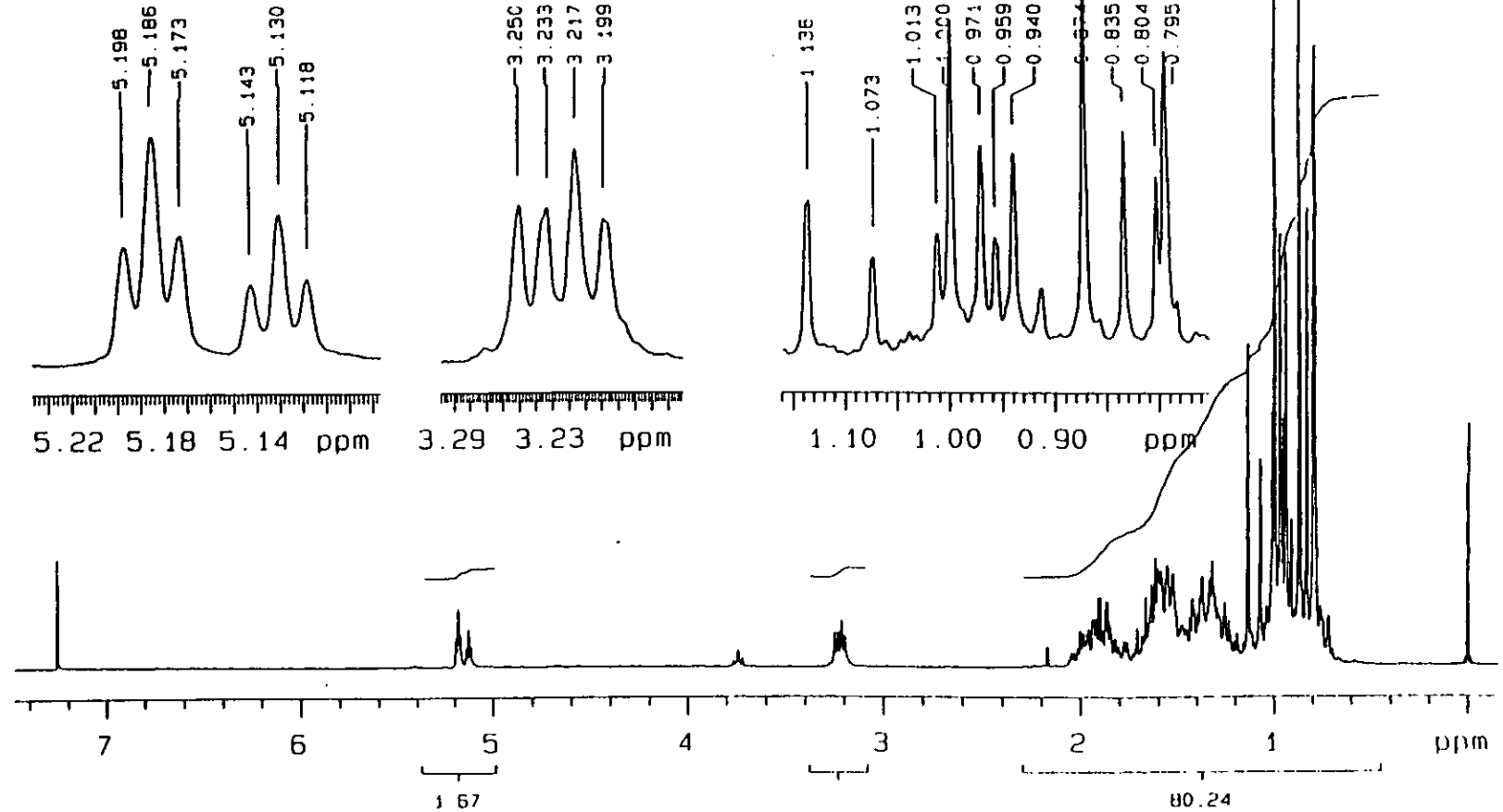
Espectro 5. Espectro de IR de la mezcla de α y β amirinas.



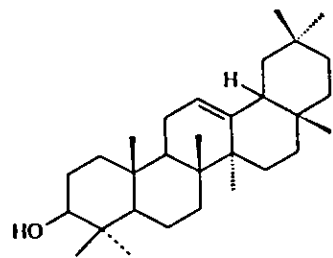
β AMIRINA



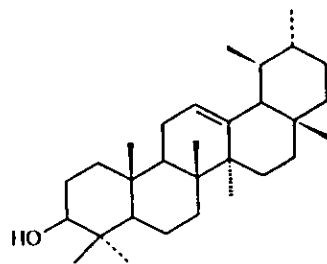
α AMIRINA



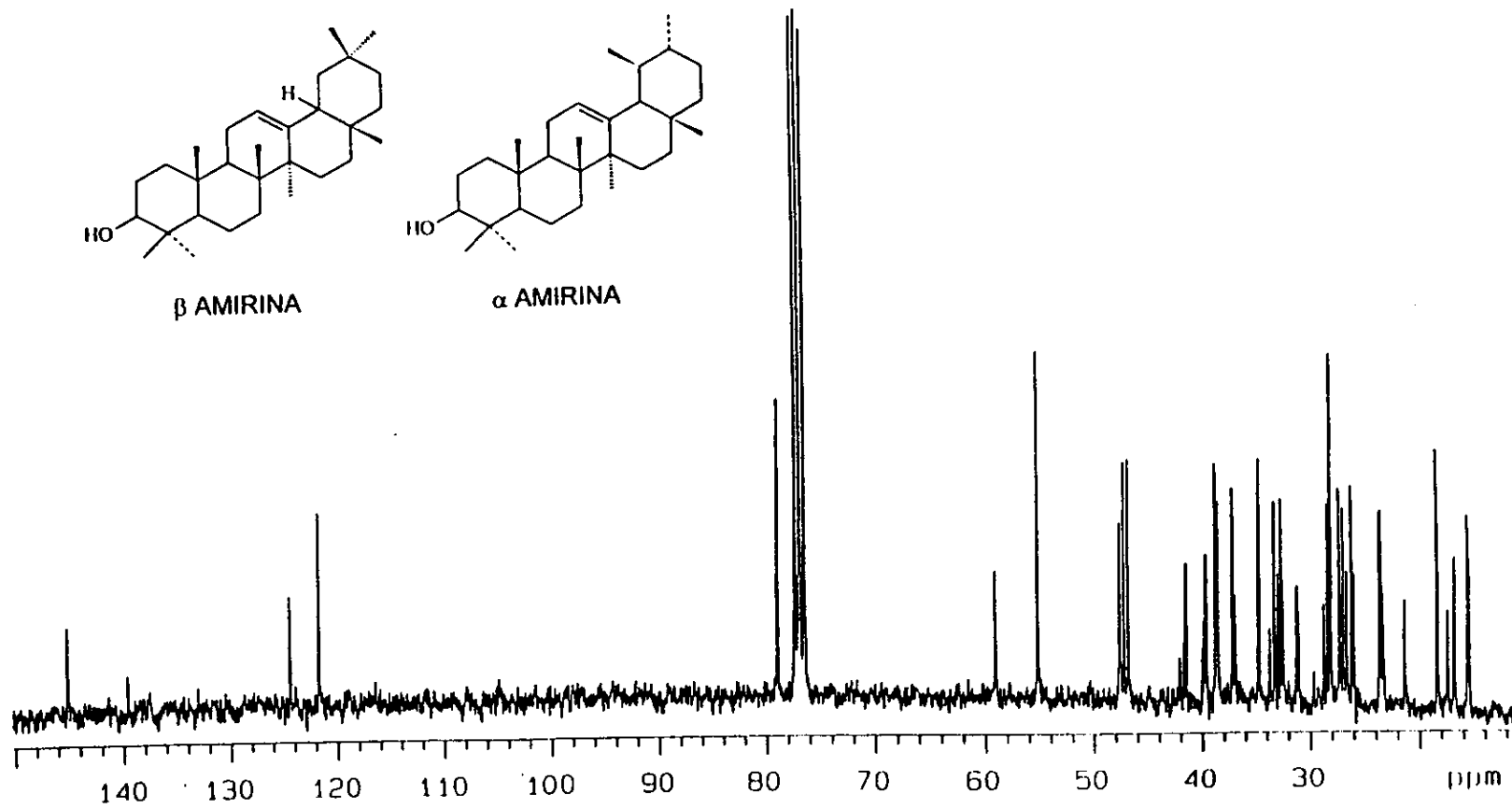
Espectro 6. Espectro de RMN- ^1H de la mezcla de α y β amirinas. 1 63



β AMIRINA

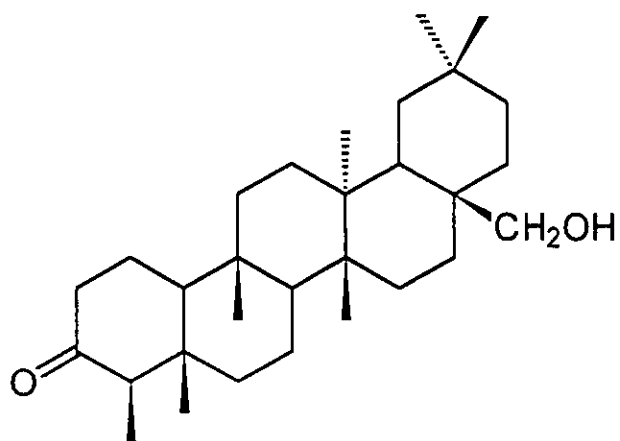


α AMIRINA

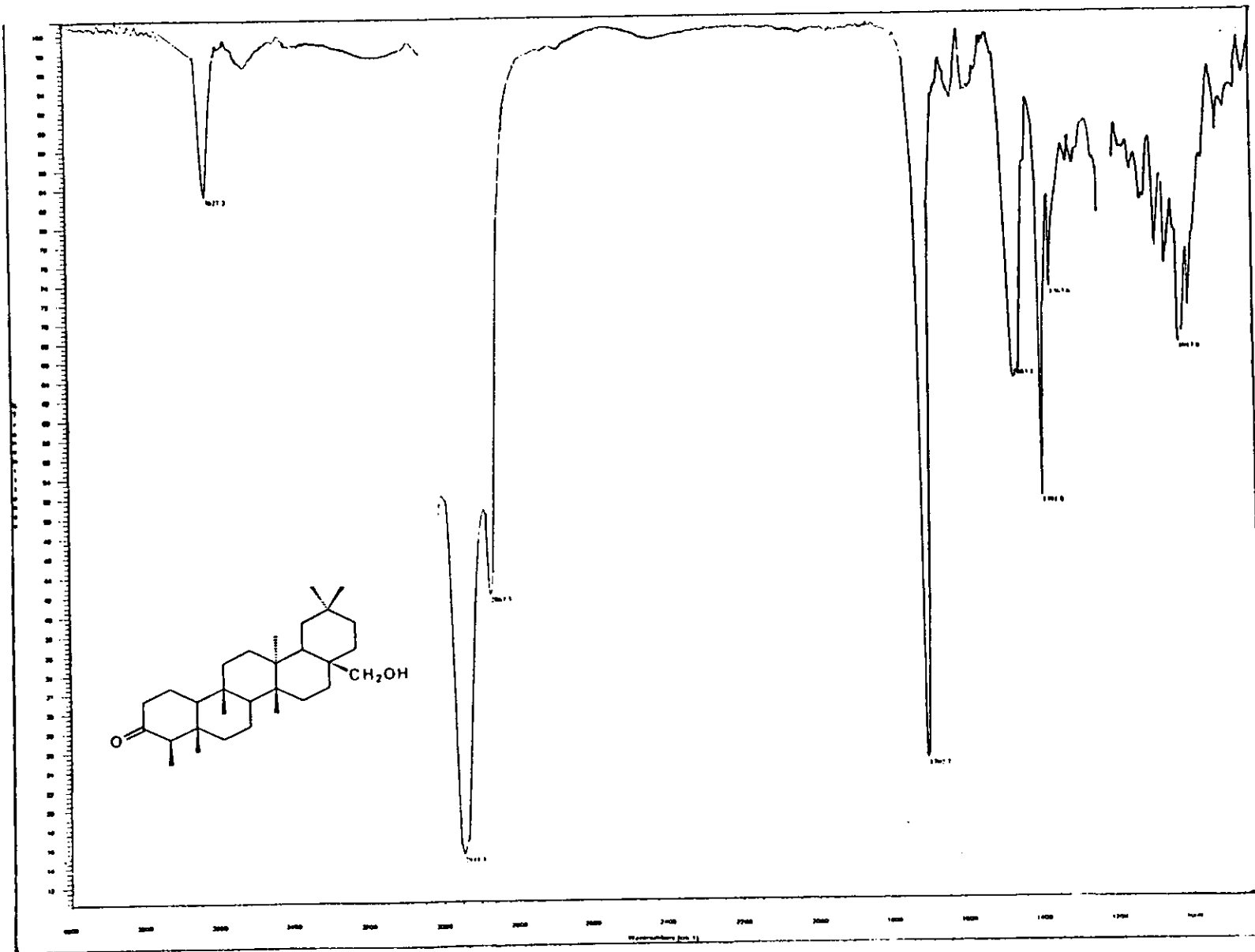


Espectro 7. Espectro de RMN-¹³C de la mezcla de α y β amirinas.

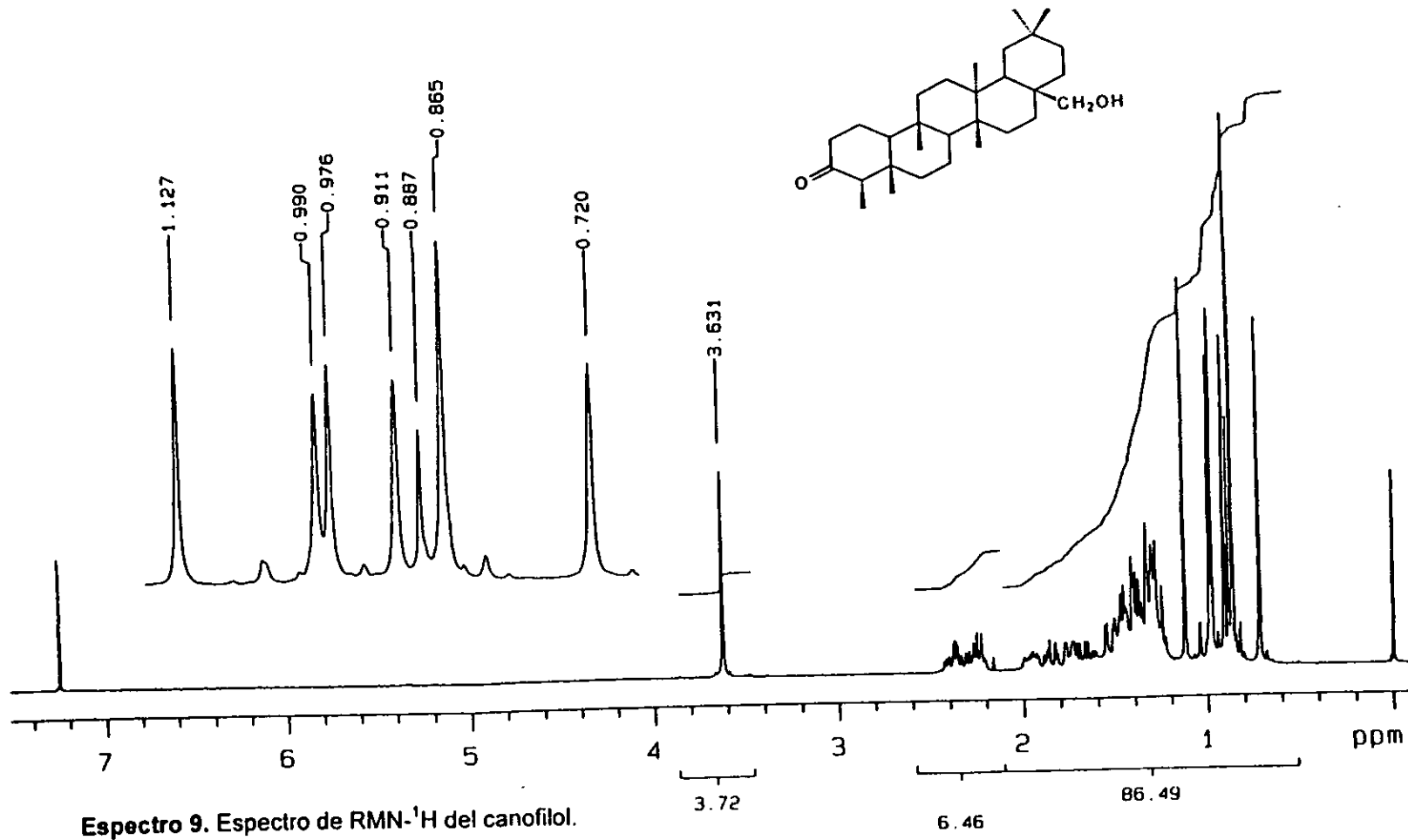
Constantes físicas y espectroscópicas del canofilol.



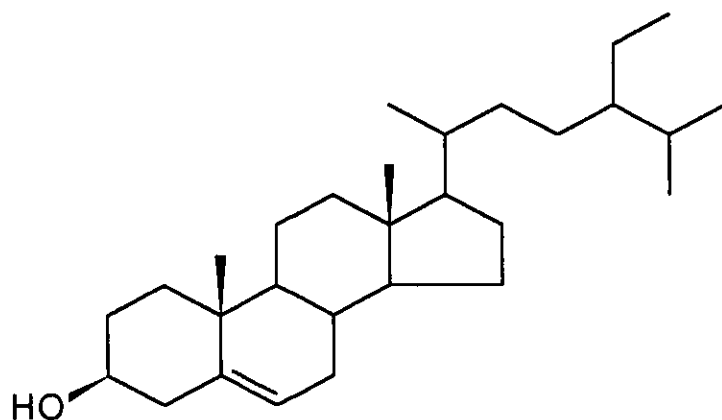
IR, ν_{max} (KBr) cm^{-1} (Espectro 8):	3627, 2944, 1702, 1463 y 1391
RMN- ^1H δ (300 Mhz, CDCl_3), ppm (Espectro 9):	3.62 (s, H-28), 1.127 (s, CH_3), 0.990 (s, CH_3), 0.976 (s, CH_3), 0.911 (s, CH_3), 0.865 (s, CH_3), 0.720 (s, CH_3), 0.876 (d, $J=6.6$ Hz, H-23).
p.f.	280-282°C



Espectro 8. Espectro de IR del canofolol.

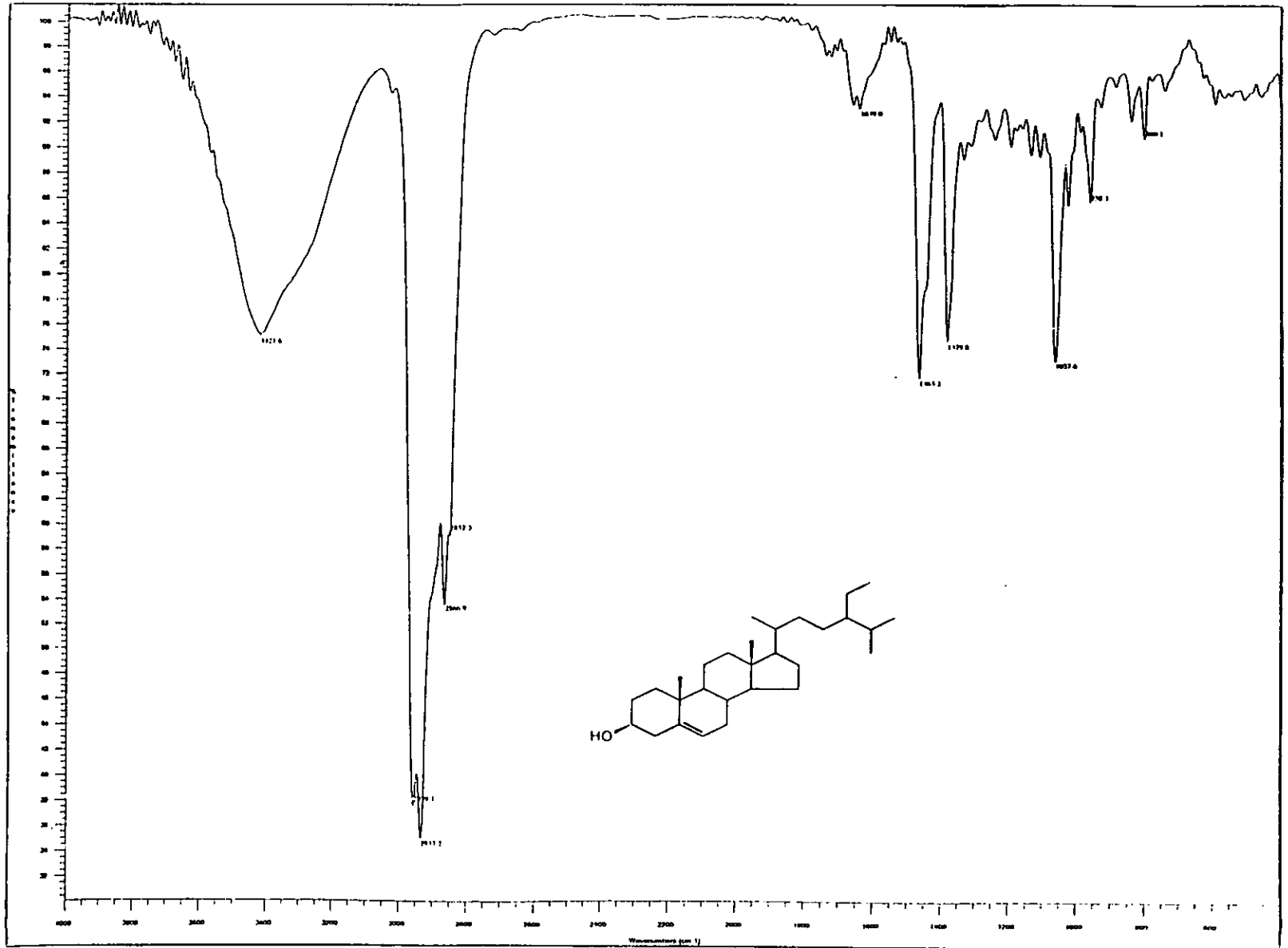


Constantes físicas y espectroscópicas del β -sitosterol.



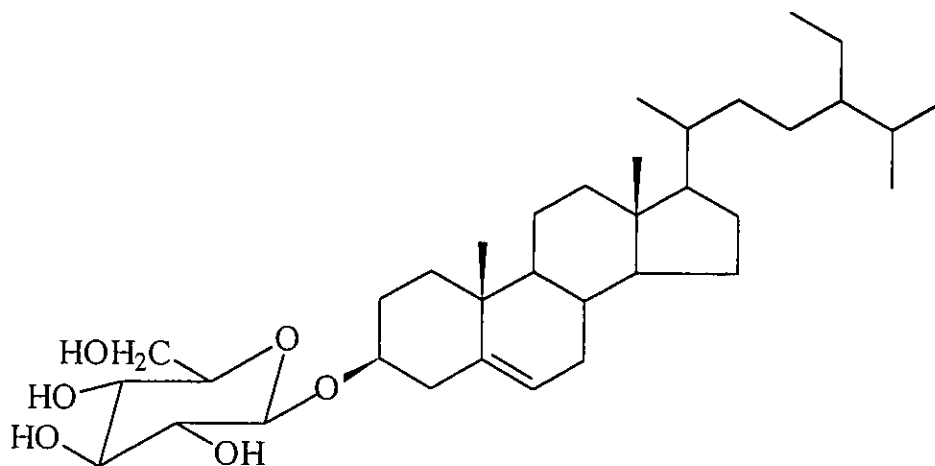
IR, ν_{max} (KBr) cm^{-1} (Espectro 10):	3421, 2959, 2866, 1639, 1463, 1379, 1057, 958
p.f.	140-142

ESTA TESIS NO DEBE
QUEDAR DE LA BOUTEQUE

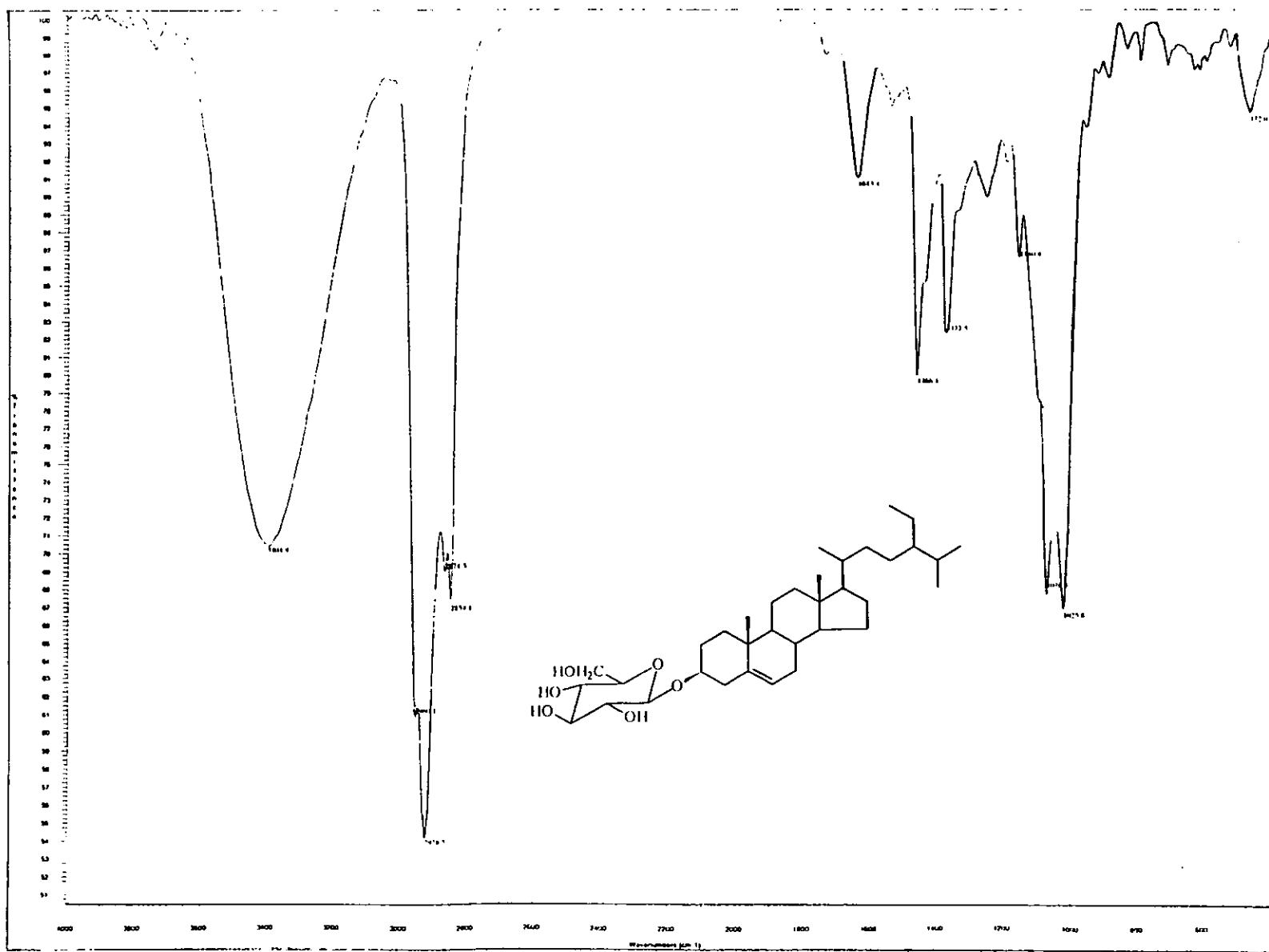


Espectro 10. Espectro de IR del β -sitosterol.

Constantes físicas y espectroscópicas del β -D-glucositolsterol.

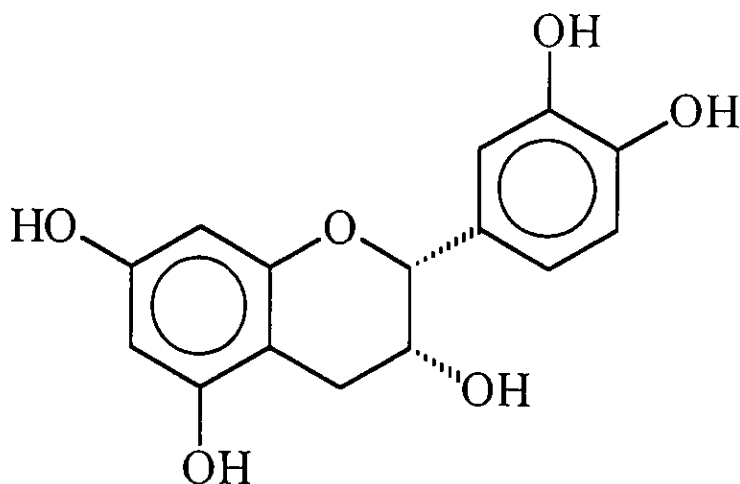


IR, ν_{max} (KBr) cm^{-1} (Espectro 11):	3040, 2428, 2854, 1643, 1466, 1377, 1160, 1076, 1025
p.f.	264°C



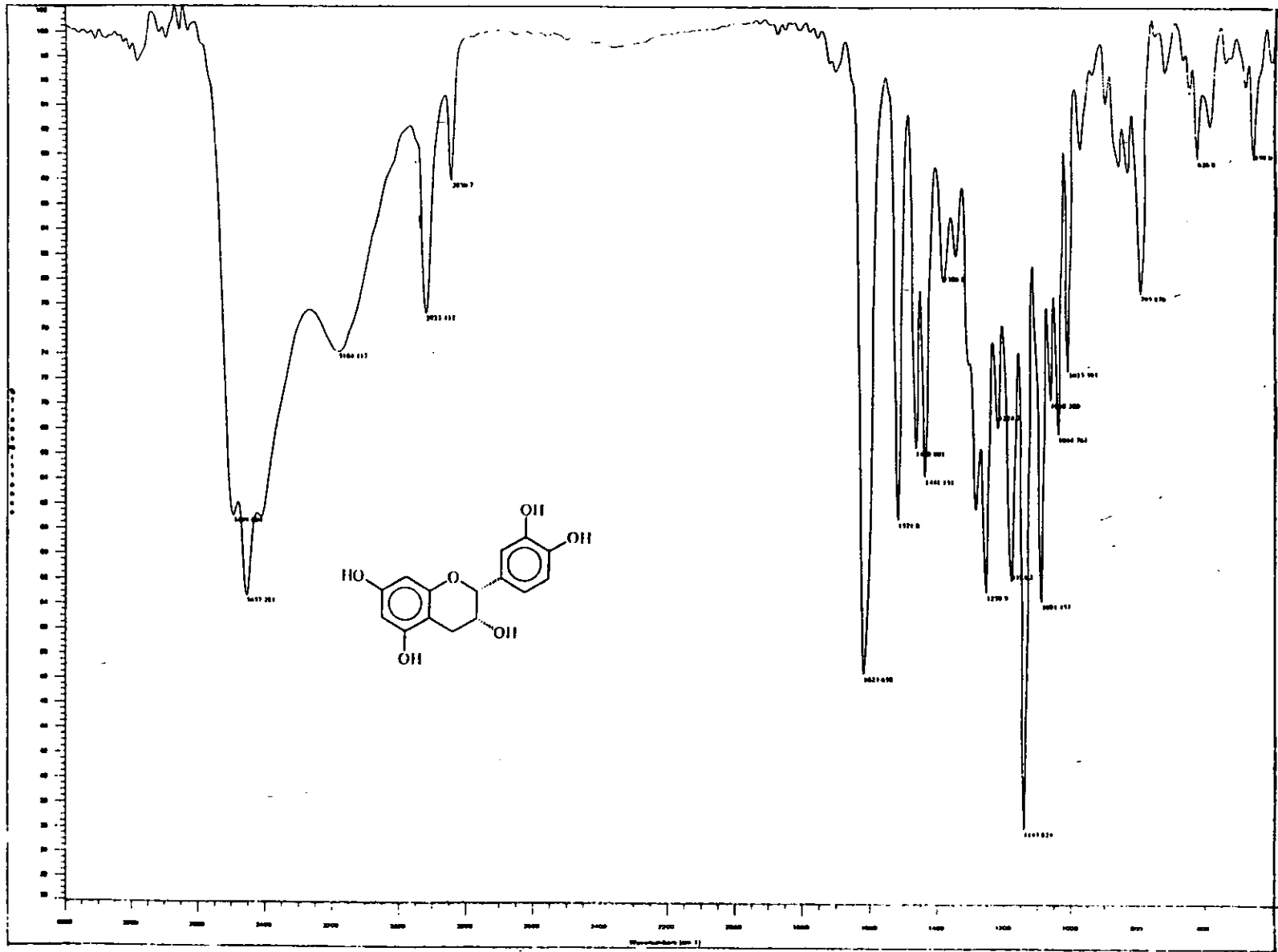
Espectro 11. Espectro de IR del β -D-glucositol.

Constantes físicas y espectroscópicas de la (-)-epicatequina.

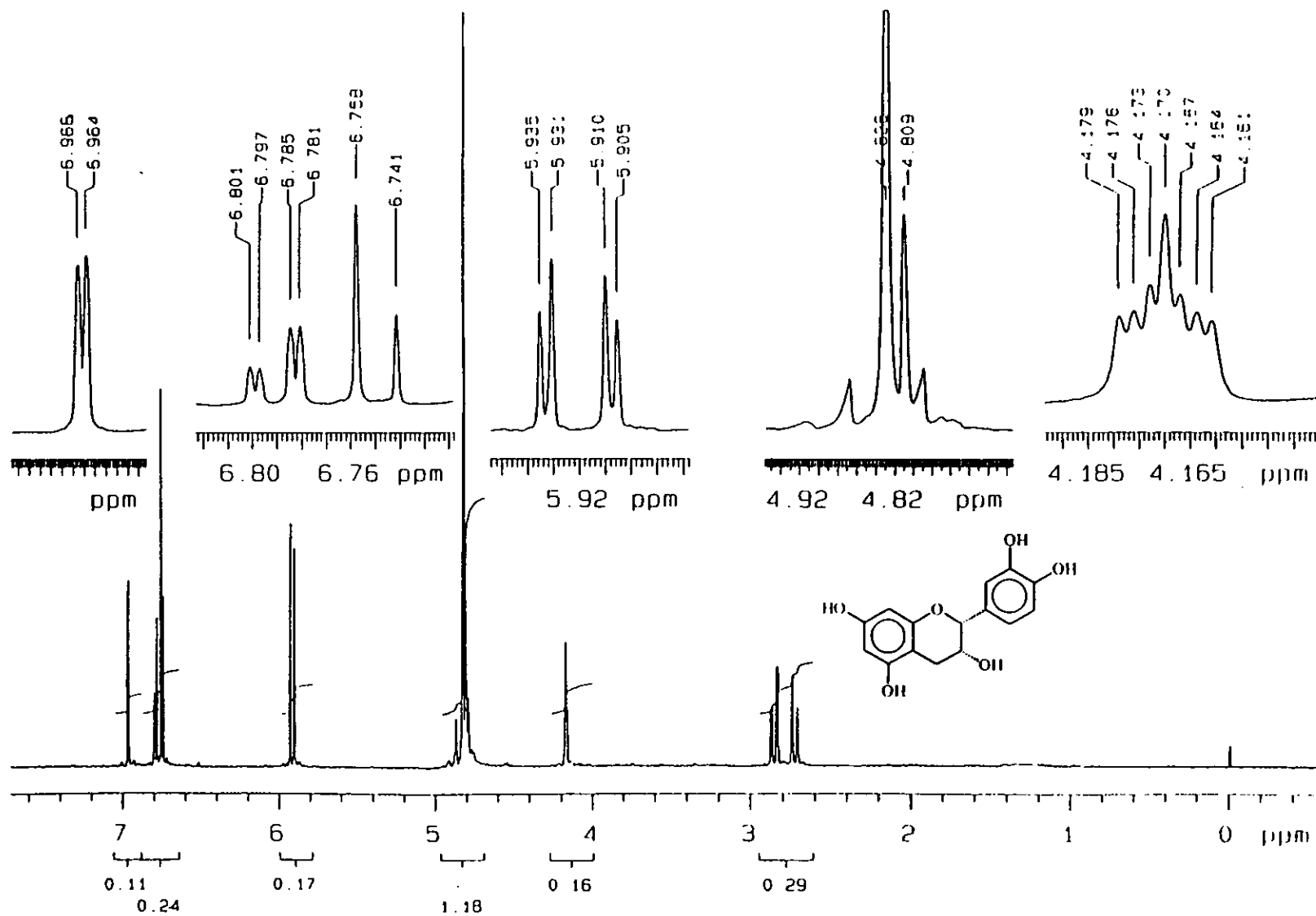


IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (Espectro 12):	3457, 3180, 1623, 1259 y 1143
RMN- ^1H δ (500 MHz, CDCl_3), ppm (Espectro 13):	2.72 (dd, $J=16.7$ y $J=3$, H-4), 2.85 (dd, $J=16.7$ y $J=5$, H ₂ -4), 4.17 (ddd, $J=1.5$, $J=1.5$ y $J=3$, H-3), 5.90 (d, $J=2$, H-8), 6.74 (d, $J=8.5$, H-5'), 6.79 (dd, $J=8$ y $J=2$, H-6'), 6.96 (d, $J=2$ (H-2')).
RMN- ^{13}C δ (125 MHz, CDCl_3), ppm (Espectro 14):	79.9 (C-2), 67.5 (C-3), 29.24 (C-4), 100.11 (C-4a), 157.4 (C-5), 95.91 (C-6), 157.7 (C-7), 96.4 (C-8), 158.04 (C-8a), 132.3 (C-1'), 145.99 (C-3'), 145.99 (C-4'), 115.9 (C-5'), 119.4 (C-6').
$[\alpha]_{\text{D}}$	-38
p.f.	282-287°C

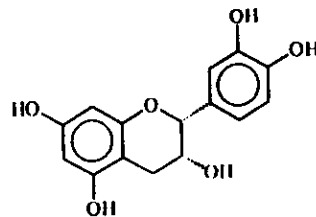
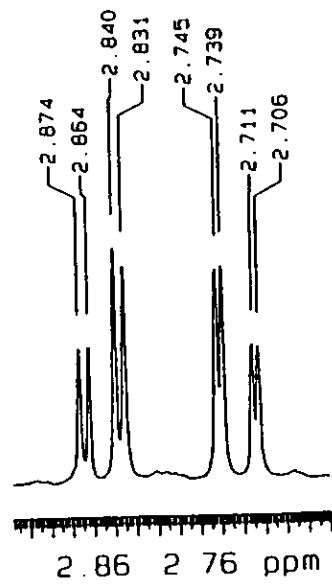
J = Constante de acoplamiento expresada en Hz.



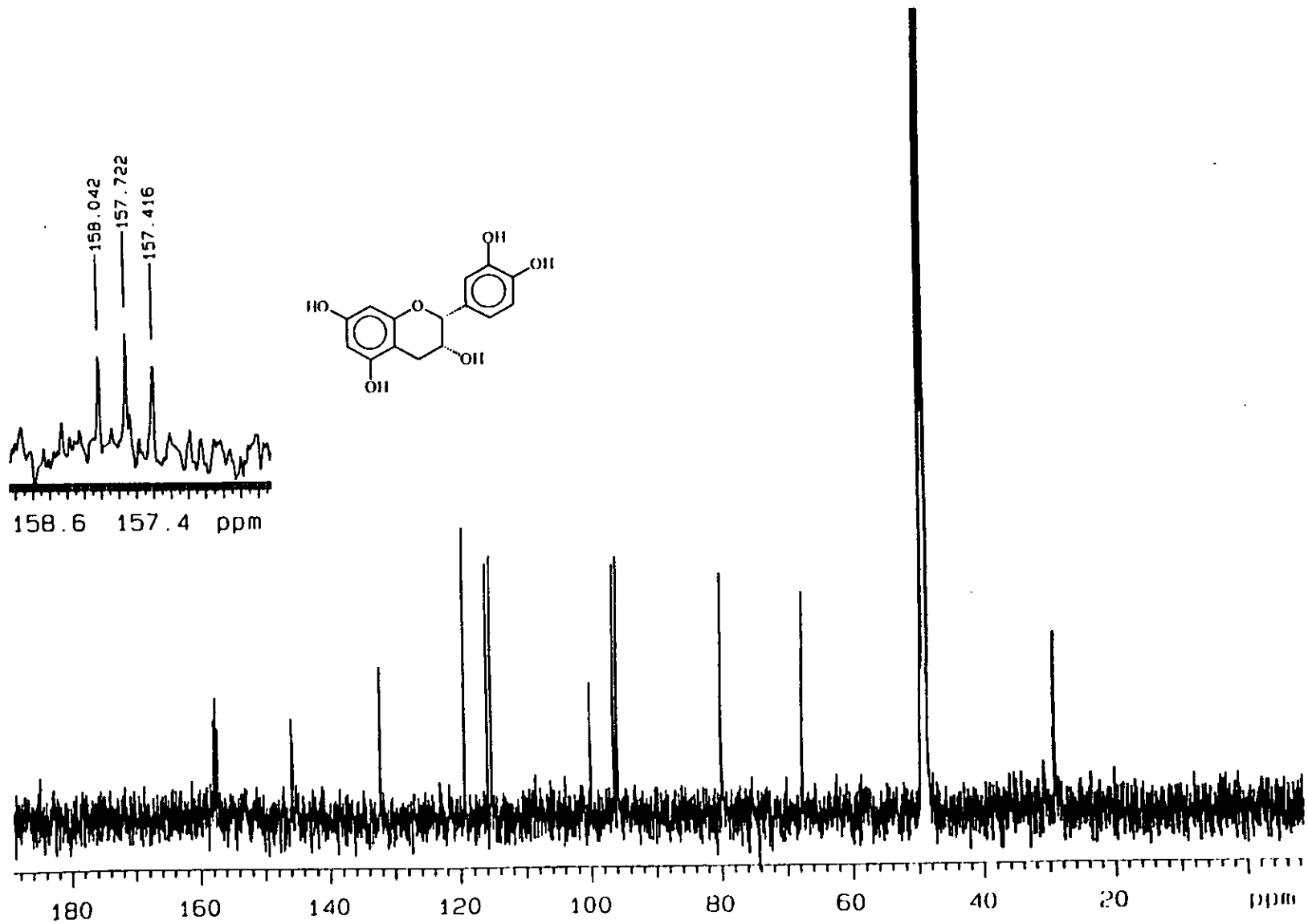
Espectro 12. Espectro de IR de la (-)-epicatequina.



Espectro 13. Espectro de RMN-¹H de la (-)epicatequina.



Espectro 13 (continuación). Espectro de RMN-¹H de la (-)-epicatequina.



Espectro 14. Espectro de RMN- ^{13}C de la (-)epicatequina.