



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“EFECTO GASTROPROTECTOR
DE ASTRAGALÓSIDO IV: ROL DE
PROSTAGLANDINAS, GRUPO
SULFHIDRILLO Y ÓXIDO
NÍTRICO”**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA
P R E S E N T A:
LILIANA TERRONES CRUZ



MÉXICO, D.F.

2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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	Prof. ELIA BROSLA NARANJO RODRIGUEZ
Vocal	Prof. ANDRES NAVARRETE CASTRO
Secretario	Prof. MARCO ANTONIO CERBON CERVANTES
1er. Suplente	Prof. RUTH BUSTAMANTE GARCÍA
2º. Suplente	Prof. MYRNA DECIGA CAMPOS

Sitio en donde se desarrolló el tema: Laboratorio 126 del conjunto E, Departamento de Farmacia, Facultad de Química, UNAM.

Asesor del tema: Dr. ANDRES NAVARRETE CASTRO

Supervisor técnico: M. en C. JESUS ARRIETA VALENCIA

Sustentante: LILIANA TERRONES CRUZ

Agradecimientos

Este proyecto fue financiado parcialmente por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico, UNAM (Proyecto DGAPA, IN 203902) y por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT 41231).

Parte de este trabajo fue publicado en:

Navarrete, A., Arrieta, J., Terrones, L., Abou-Gazar, H., Calis, I. (2005).
“Gastroprotective effect of Astragaloside IV: role of prostaglandins, sulfhydryls and nitric oxide”. *Journal Pharmacy and Pharmacology* 57:1059-1064.

Agradecimientos

Al *Dr. Andrés Navarrete* por su dedicación y por inspirar el trabajo de investigación entre los estudiantes.

Al *M. en C. Jesús Arieta Valencia* por su apoyo, sus conocimientos pero sobre todo por su amistad.

A la *M. en C. María Elena Sánchez Mendoza* por su gran compañerismo.

A mis compañeros del laboratorio 126 del conjunto E Departamento de Farmacia de la Facultad de Química por su apoyo durante el desarrollo de este trabajo, en especial a **Margarita Caballero.**

Dedicatoria

A mis padres

Eva y Abel

Gracias por haberme enseñado el valor que representa una familia, por el apoyo y amor que me han brindado al realizar mis proyectos, en especial a mi madre por ser mi amiga y por mantener unida a nuestra familia.

A mi esposo

Alejandro

Por la confianza, el impulso, el apoyo, por compartir conmigo su tiempo, espacio, cariño pero sobre todo llenar mi vida de amor.

A mis hermanos

Eva, Abel, y Esperanza

Por ser mis compañeros, amigos y protectores a lo largo de mi vida.

Emilio

Por dar a mi vida amor, dulzura y fortaleza.

A mis sobrinos

Axel, Leonardo, Lorena y Rodrigo.

Por representar la felicidad, la unión y la esperanza en mi familia.

ÍNDICE

GLOSARIO DE ABREVIACIONES.....	i
ÍNDICE DE DIAGRAMAS.....	ii
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	ii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	iii
RESUMEN.....	iv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. FUNDAMENTO TEÓRICO	2
2. FISIOLOGÍA DEL ESTÓMAGO.....	2
3. ÚLCERA GÁSTRICA	3
4. ETIOLOGÍA	4
5. PATOLOGÍA.....	5
6. SINTOMATOLOGÍA.....	6
7. LA ÚLCERA PÉPTICA EN MÉXICO.....	7
8. MODELOS EXPERIMENTALES PARA INDUCIR LESIONES GÁSTRICAS EN ANIMALES	9
8.1. Lesiones gástricas inducidas por etanol	9
8.2. Lesiones gástricas inducidas por estrés.....	10
8.3. Lesiones gástricas inducidas por ligadura de píloro.....	10
8.4. Lesiones gástricas inducidas por AINE's	10
8.5. Lesiones gástricas inducidas por agentes necrosantes	11
8.6. Lesiones gástricas inducidas por dieta de glucosa.....	11

9. TRATAMIENTOS.....	11
9.1. Antiácidos	12
9.1.1. Antiácidos absorbibles	12
9.1.2. Antiácidos no absorbibles	12
9.2. Antisecretores	13
9.2.1. Antagonistas de los receptores H ₂	13
9.2.2. Fármacos inhibidores de la bomba de protones	14
9.2.3. Antimuscarínicos	14
9.2.4. Antagonistas de la gastrina.....	15
9.3. Citoprotectores	15
9.3.1. Mecanismos de citoprotección	17
9.3.1.1. Factores funcionales.....	18
9.3.1.2. Factores humorales	19
9.3.1.3. Factores neuronales.....	21
9.3.2. Fármacos citoprotectores	22
9.3.2.1. Sucralfato	22
9.3.2.2. Sales de Bismuto.....	23
9.3.2.3. Carbenoxolona	23
9.3.2.4. Análogos de las prostaglandinas	24
9.4. CITOPROTECCIÓN INDEPENDIENTE DE PROSTAGLANDINAS.....	24
9.4.1. Grupos sulfhidrilo	24
9.4.2. Factor de crecimiento epidérmico	25
9.4.3. Meciadanol.....	25
9.4.4. Sulglicótido	26
9.4.5. Alginato.....	26

10. PRINCIPIOS ACTIVOS AISLADOS DE PLANTAS CON ACTIVIDAD ANTIULCEROSA	26
10.1. Flavonoides	26
10.2. Saponinas	27
10.3. Taninos	28
10.4. Gomas y mucílagos	28
10.5. Alcaloides	29
10.6. Aceites.....	30
10.7. Triterpenoides	30
11. Plantas con actividad gastroprotectora	31
12. Astragalus sp.....	32
12.1. Astragalósido IV	33
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	34
VI. HIPÓTESIS	35
V.OBJETIVO.....	36
VI. METODOLOGÍA	37
6.1. Material vegetal.....	37
6.2. Aparatos	37
6.3. Extracción y fraccionamiento de las raíces del Astragalus	37
6.4. Animales.....	39
6.5. Fármacos y dosificación.....	39
6.6. Lesiones gástricas inducidas por etanol absoluto	40
6.7. Lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas pretratadas por indometacina.....	42
6.8. Lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas pretratadas por L-NAME.....	42
6.9. Lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas pretratadas con NEM.....	45
6.10. Estadística	45

VII. RESULTADOS	47
VIII. DISCUSIÓN	54
IX. CONCLUSIÓN.....	58
X. BIBLIOGRAFÍA.	59
APÉNDICE. ARTÍCULO GENERADO DEL PRESENTE TRABAJO.....	73

ÍNDICE DE DIAGRAMAS

Diagrama 1. Evaluación de la actividad gastroprotectora de astragalósido IV o carbenoxolona.....	41
Diagrama 2. Evaluación del efecto de indometacina sobre la actividad gastroprotectora del astragalósido IV o carbenoxolona.....	43
Diagrama 3. Evaluación del efecto de L-NAME sobre la actividad gastroprotectora del astragalósido IV o carbenoxolona.	44
Diagrama 4. Evaluación del efecto de N-etilmaleimida sobre la actividad gastroprotectora del astragalósido IV o carbenoxolona.....	46

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Efecto de distintas dosis de astragalósido IV (3-30 mg/kg) administrado oralmente sobre lesiones gástricas inducidas en ratas por la administración oral de etanol absoluto (1 mL/rata).	48
Gráfica 2. Efecto de distintas dosis de carbenoxolona (3-30 mg/kg) administrado oralmente sobre lesiones gástricas inducidas en ratas por la administración oral de etanol absoluto (1 mL/rata).	49

Gráfica 3. Efecto de la administración oral de astragalósido IV (AsIV, 30 mg/kg) y carbenoxolona (CAR, 30 mg/kg) sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol absoluto en ratas pretratadas con L-NAME (70 mg/kg, i. p.)..... 50

Gráfica 4. Efecto de la administración oral de astragalósido IV (AsIV, 30 mg/kg) o carbenoxolona (CAR, 30 mg/kg) sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol absoluto en ratas pretratadas con indometacina (10 mg/kg, s. c.).....51

Gráfica 5. Efecto de la administración oral de astragalósido IV (AsIV, 30 mg/kg) o carbenoxolona (CAR, 30 mg/kg) sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol absoluto en ratas pretratadas con NEM (10 mg/kg, s. c.).....52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Anatomía del estómago.....2

Figura 2. Estructura del Astragalósido IV.....33

GLOSARIO DE ABREVIACIONES

AINE's	Antiinflamatorios no esteroideos
AMPC	3,5- Monofosfato ciclico de adenosin
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
CaCO₃	Carbonato de calcio
CO₂	Dióxido de carbono
CONAPO	Consejo Nacional de Población
COX	Ciclooxigenasa
HCl	Ácido clorhídrico
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
INEGI	Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática
L-NA	N ^g -nitro-L-arginina
L-NAME	Éster metílico de N ^G -nitro-L-arginina
NEM	N-etilmaleimida
NaCl	Cloruro de sodio
NaHCO₃	Bicarbonato de sodio
NaOH	Hidróxido de sodio
NO	Óxido nítrico
O₂⁻	Radical superóxido
OH[·]	Radical hidroxilo
SAGARPA	Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación.
SON	Óxido Nítrico Sintasa
SSA	Secretaría de Salud

RESUMEN

En el presente trabajo se determinó la actividad gastroprotectora del Astragalósido IV (3-*O*- β -D-xilopiranosil-6-*O*- β -D-glucopiranosilciclo astragenol), un glicósido triterpénico de tipo cicloartano aislado de *Astragalus zahlbruckneri*, utilizándose el modelo de inducción de lesiones gástricas por etanol en ratas Wistar. El propósito por el cual se desarrolló el presente trabajo fue dar un sustento adicional a la propuesta de que un triterpeno o un esteroide con un hidroxilo libre o derivado en la posición 3 presentan actividad gastroprotectora. Como fármaco de referencia se utilizó a la carbenoxolona. Asimismo, se evaluó la participación de las prostaglandinas, el óxido nítrico y los grupos sulfhidrilos en el mecanismo de acción gastroprotector de este triterpeno.

El Astragalósido IV presentó un efecto gastroprotector dependiente de la dosis, presentando una gastroprotección del 15, 37 y 52 % a las dosis de 3, 10 y 30 mg/kg (p.o.) respectivamente. La gastroprotección observada a la dosis de 30 mg/kg para este compuesto fue atenuada en ratas pretratadas con el éster metílico de la N^G-nitro-L-arginina (70 mg/kg, s.c.), un inhibidor de la sintasa del óxido nítrico, lo que sugiere que en el mecanismo de acción gastroprotector de este glicósido se encuentra involucrado, al menos en parte, el óxido nítrico. El efecto gastroprotector del Astragalósido IV no fue afectado por la administración de indometacina (10 mg/kg, s.c.), un inhibidor de la síntesis de prostaglandinas, ni por el bloqueo de los grupos sulfhidrilos con N-etilmaleimida (10 mg/kg, s.c.). La carbenoxolona que fue usada como fármaco gastroprotector de referencia mostró un efecto gastroprotector dependiente de la dosis (25, 43 y 88 % de gastroprotección a las dosis de 3, 10 y 30 mg/kg, respectivamente). Se observó la participación parcial de las prostaglandinas, los grupos sulfhidrilos y el óxido nítrico en el mecanismo gastroprotector de la carbenoxolona.

INTRODUCCIÓN

Varios triterpenoides, incluyendo carbenoxolona, y esteroides han mostrado ejercer actividad gastroprotectora (Lewis y Hanson, 1991; Borrelli e Izzo, 2000; Oliveira *et al.*, 2004). Se ha propuesto en trabajos anteriores realizados en nuestro laboratorio que un grupo hidroxilo libre o derivado en el carbono 3 de su estructura es una característica esencial para que los triterpenoides o los esteroides ejerzan actividad gastroprotectora (Navarrete *et al.*, 2002). Esta hipótesis está basada en la observación de que triterpenoides y esteroides con esta característica estructural muestran actividad gastroprotectora. Como característica adicional se ha encontrado que algunos de estos compuestos tienen actividad anti-inflamatoria (Rajic *et al.*, 2001).

Basándonos en lo anterior, para dar un mayor soporte a dicha hipótesis, este trabajo se encaminó a la evaluación del efecto gastroprotector del Astragalósido IV, un glucósido triterpénico de tipo cicloartano (3-*O*- β -D-xilopiranosil-6-*O*- β -D-glucopiranosilcicloastragenol), el cual es un constituyente característico y activo de algunas especies de *Astragalus* (Gu *et al.*, 2004; Yesilada *et al.*, 2005).

El Astragalósido IV posee ambas características: es una saponina con un grupo hidroxilo derivado en la posición C-3 y también posee actividad antiinflamatoria (Zhang *et al.*, 2003).

También se evaluó la participación de las prostaglandinas, el óxido nítrico y los grupos sulfhidrilos en el mecanismo de acción gastroprotector de este glicósido.

II. FUNDAMENTO TEÓRICO

2. FISIOLOGÍA DEL ESTÓMAGO

El estómago es una parte expandida del tubo digestivo que se localiza en la parte alta del abdomen, tiene el mismo plan estructural en toda su extensión consistiendo en una mucosa, submucosa, muscular propia y serosa. Su anatomía (Figura 1) esta constituida de varias porciones, como son: cardias, fondo, cuerpo, antro y píloro (Rodríguez, 2000).

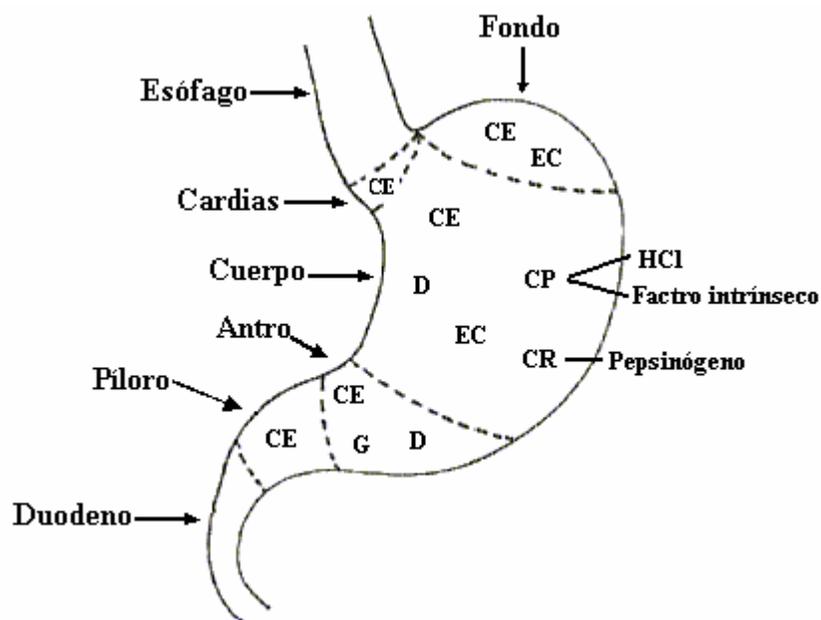


Figura 1. Anatomía del estómago. CE. Células epiteliales superficiales, EC: células tipo enterocromafin; CP: células parietales; CR: células principales; D: células D; G: células G; HCl: ácido clorhídrico.

En las regiones pilórica y cardial existen glándulas las cuales contienen células epiteliales superficiales; en el cuerpo y fondo del estómago las glándulas contienen células parietales, células principales, células mucosas del cuello, células enterocromafines (Bernardi *et al.*, 2003) y células D, y en el antro las glándulas poseen células G y D (Ganong, 1996).

Las células epiteliales superficiales (Distribuidas en todo el estómago) son las encargadas de la secreción gástrica alcalina y de moco visible, las células parietales secretan ácido clorhídrico y factor intrínseco, las células principales secretan proteínas, enzimas proteolíticas, pepsinógeno y lipasa gástrica, las células G producen gastrina, las células D producen somatostatina, las células mucosas del cuello glandular producen moco soluble y las células enterocromafines segregan serotonina e histamina (Bernardi *et al.*, 2003).

3. ÚLCERA GÁSTRICA

Se denomina úlcera gástrica al segmento escoriado (discontinuo) de la mucosa gastrointestinal que penetra a través de la capa muscular (*muscularis mucosae*) de la mucosa (Guth, 1973; Wyngaarde, 1985), dicho proceso ocurre cuando hay una alteración en el balance normal, inducido por factores agresivos o por una disminución en la resistencia de la mucosa (Borrelli e Izzo, 2000). Las principales formas de úlcera, de acuerdo a su localización, son la úlcera duodenal y la úlcera gástrica, pero también se pueden encontrar úlceras pépticas en el extremo inferior del esófago, donde con frecuencia se produce reflujo del jugo gástrico (Sodeman y Sodeman, 1984; IMSS, 2004). En pacientes con úlcera duodenal se observa un marcado incremento de las células parietales, de la capacidad secretora y del ritmo del vaciamiento gástrico, dichos procesos conllevan a un aumento en la carga ácida. Después de la segunda media hora de la ingestión de alimentos se observa un aumento de la capacidad secretora y del ritmo del vaciamiento gástrico, cuando gran parte de la proteína amortiguadora ha sido degradada o vaciada por el estómago (Sodeman y Sodeman, 1984; Smith y Thier, 1989).

Las úlceras, dependiendo de la hipersecreción de ácido producida, se clasifican principalmente en dos grupos: úlceras tipo I y úlceras tipo II. En las úlceras tipo I, que se producen en el estómago, hay poca o ninguna hipersecreción de ácido. Las úlceras tipo II abarcan tanto úlceras gástricas, antrales, prepilóricas y duodenales; se caracterizan por hipersecreción, secreción sostenida de ácido y acidificación por excesiva descarga de gastrina. (Brunton, 1996).

4. ETIOLOGÍA

El desarrollo de la úlcera péptica es el resultado de una zona localizada de necrosis y digestión del revestimiento del tubo digestivo. Esto deja una zona sin moco en la mucosa gástrica, susceptible a la posterior digestión (Sodeman y Sodeman, 1984). La causa ordinaria de la ulceración péptica es el desequilibrio entre la secreción de jugo gástrico y el grado de protección producido por la barrera mucosa gastroduodenal y la neutralización del ácido gástrico por los jugos duodenales. En ocasiones la úlcera rompe vasos sanguíneos causando hemorragia, o atraviesa completamente la pared intestinal, penetrando en órganos vecinos o creando una perforación libre en la cavidad peritoneal. Casi siempre hay actividad regeneradora, que en cualquier momento puede lograr la curación de la úlcera, especialmente si esta se protege del jugo gástrico (Sodeman y Sodeman, 1984). Las úlceras duodenales son causadas cuando la secreción excesiva de ácido y pepsina generada por las células gástricas no son amortiguadas por el revestimiento de la mucosa gástrica, existen cuatro posibles causas: a) calidad en la secreción de moco anormal, el cual tiene un poder protector reducido, b) disminución de la secreción de moco, c) incapacidad de los mecanismos de retroalimentación duodeno-

gástricos normales para limitar la magnitud del vaciamiento gástrico hacia el duodeno y d) incapacidad de los mecanismos de retroalimentación de secretina pancreática y secretina-conductos biliares para producir secreción de jugo pancreático y bilis lo suficientemente alcalinos como para neutralizar el jugo gástrico a su entrada en el duodeno (Lam, 1984; Spiro, 1987).

5. PATOLOGÍA

La fisiopatología de la enfermedad por secreción ácida puede considerarse como un desequilibrio entre los factores agresivos como son: la secreción de ácido, pepsina, factores externos como el uso de AINE's, infección por *Helicobacter pylori* y las defensas locales de la mucosa, constituidas por la secreción de moco y bicarbonato, las prostaglandinas, el óxido nítrico, las neuronas sensibles a capsaicina y los grupos sulfhidrilos (Borrelli e Izzo, 2000; Brunton, 1996; Tsukimi y Okabe, 2001).

Tanto la úlcera gástrica como la duodenal son más frecuentes en fumadores, la úlcera gástrica parece predominar entre los consumidores habituales de aspirina. Cuando un paciente padece úlcera gástrica y es fumador la tasa de mortalidad se incrementa tanto en hombres como en mujeres, este hecho se atribuye a los efectos del tabaquismo sobre el tracto gastrointestinal: aumento de la secreción del ácido, incremento del reflujo duodenogástrico (reflujo de la bilis del duodeno al estómago) y retardo de la curación de las úlceras (Samet, 2002). Los corticosteroides, el alcohol, el café, la indometacina, la fenilbutazona y la reserpina predisponen a padecer o agravar la úlcera péptica por su capacidad de modificar las características del moco gástrico debido a que inhiben la producción de prostaglandinas, por interferir con la reproducción de la célula epitelial o

por aumentar la secreción del ácido (Lanza, 1984; Shorrock *et al.*, 1990; Valadez, 1989). Así mismo la úlcera péptica es más frecuente en pacientes con artritis reumatoide (Lanza, 1984). La infección por *Helicobacter pylori* está estrechamente relacionada con la gastritis crónica y la úlcera gastroduodenal. *H. pylori* es una bacteria en forma de espiral gram negativa que causa importantes desajustes en la mucosa gástrica. La infección por *H. pylori* provoca más del 90% de las úlceras duodenales y más del 80 % de las úlceras gástricas (Marshall y Warren, 2005) a través de un incremento en la secreción de ácido gástrico, inducción metaplasia gástrica en el duodeno, alteración las funciones de la barrera de moco e inducción de la formación de metabolitos inflamatorios de la mucosa gástrica; además *H. pylori* esta asociada a la mayoría de los casos de gastritis superficial crónica y a la úlcera péptica, asimismo al cáncer gástrico, a la atrofia gástrica y a linfomas de mucosa gástrica (Torres, 2003). Los genes de *Helicobacter pylori* y su secreción de toxinas le permiten adherirse al estómago con mayor facilidad que otras bacterias con lo que su agresividad y el riesgo de desarrollar úlceras es mayor. (IMSS, 2004; Blazer y Parsonnet, 1994).

Los pacientes que padecen el síndrome Zollinger-Ellison desarrollan gastrinomas los cuales llevan a secreción de grandes cantidades de ácido, esto puede llevar a una severa ulceración gastroduodenal y otras consecuencias de la hipersecreción no controlada. (Hoogerwerf y Pasricha, 2001).

6. SINTOMATOLOGÍA

El dolor es el síntoma más notable de la úlcera péptica, que se caracteriza por su cronicidad y periodicidad en relación con la ingestión de alimentos, debido a que estos

estimulan la secreción de ácido el cual interactúa con la zona lesionada. El dolor suele ser agudo o sordo y se describe como una sensación de ardor, vacío, pesadez en la parte alta del estómago o como hambre (Smith y Thier, 1989). Además se presentan náuseas, vómitos, anorexia y pérdida de peso, éstos se pueden producir por hipersensibilidad de la zona lesionada, además si existe hipersecreción de jugo gástrico puede presentarse vómito del mismo (Valadez, 1989; Jerzey, 1970). La úlcera péptica se acompaña, algunas veces, de complicaciones como son: sangrado (la más frecuente), fenómenos obstructivos y penetración hacia órganos vecinos o hacia el peritoneo (Soll, 1994).

7. LA ÚLCERA PÉPTICA EN MÉXICO

Uno de los indicadores más sólidos y descriptivos de las condiciones de salud de una población lo constituyen los datos referentes a la mortalidad. Las causas de muerte en una población cambian con el tiempo, son diferentes dependiendo del lugar, se modifican al interior de cada grupo dependiendo de la edad y difieren en magnitud entre géneros. Conocer de que muere hoy en día la población nos obliga a tomar las medidas necesarias para evitar las muertes previsibles y prematuras, posponer la ocurrencia y mejorar la calidad de vida de la población que sufre del padecimiento (Fernández, 2003). En el Cuadro 1 se presenta la comparación entre las tasas brutas de mortalidad y las tasas estandarizadas de mortalidad Nacional y del Distrito Federal en el periodo comprendido del 2000 al 2001 (Secretaria de Salud del Gobierno del Distrito federal, 2003). En dicho cuadro se observa que la úlcera gástrica y duodenal ocupa el lugar 18 a nivel nacional como causa de muerte. Por otro lado la venta de fármacos anti-ulcerosos a nivel mundial ocupó el segundo lugar con una venta de 26.3 mil millones de dólares de junio del 2004 a

junio del 2005 (Class, 2005), lo anterior pone de manifiesto la importancia que tiene la úlcera en la población tanto nacional como mundial y plantea la necesidad de desarrollar nuevos fármacos anti-ulcerosos.

Cuadro 1. Principales causas de mortalidad general en México y Distrito Federal, 2000-2001

Número de orden	Causa	Nacional		Distrito Federal			
		Tasa*		Tasa*		Estándar**	
		2000	2001	2000	2001	2000	2001
1	Enfermedades del corazón *Enfermedades isquémicas del corazón	69.0 44.3	69.2 44.9	99.4 67.2	100.9 70.6	79.7 53.7	77.6 54.0
2	Diabetes Mellitus	46.8	49.1	73.2	76.4	59.2	59.6
3	Tumores malignos	55.2	55.2	70.4	71.8	58.1	57.4
4	Enfermedades cerebrovasculares	25.5	25.3	32.6	31.5	26.2	24.3
5	Enfermedades del hígado *Enfermedad alcohólica del hígado	27.5 13.6	27.4 13.4	30.3 13.4	30.5 12.8	25.2 13.3	24.5 10.4
6	Accidentes	35.5	34.8	24.3	25.7	22.3	23.3
7	Ciertas afecciones originadas en el período perinatal	19.5	17.9	18.1	17.1	23.0	21.8
8	Influenza y neumonía	12.4	11.2	14.6	15.1	12.9	12.7
9	Enfermedades pulmonares obstructivas crónicas	11.0	10.9	13.3	13.2	10.6	10.0
10	Agresiones (homicidio)	10.8	10.1	9.0	9.7	8.3	9.1
11	Malformaciones congénitas, deformidades y anomalías cromosómicas	9.6	9.0	10.6	9.6	13.1	11.8
12	Insuficiencia renal	8.6	9.1	9.5	9.3	7.8	7.4
13	Enfermedades por virus de la inmunodeficiencia humana (SIDA)	4.2	4.2	7.1	6.9	6.2	6.0
14	Bronquitis crónica y la no especificada, enfisema y asma	7.1	6.8	7.0	6.6	5.7	5.1
15	Desnutrición y otras deficiencias nutricionales	9.0	8.5	6.0	5.6	5.0	4.6
16	Septicemia	3.2	3.3	3.9	4.3	3.4	3.8
17	Lesiones autoinfligidas intencionalmente (suicidio)	3.5	3.7	3.7	4.3	3.5	4.0
18	Úlcera gástrica y duodenal	2.8	2.6	3.6	3.3	2.9	2.6
19	Enfermedades infecciosas intestinales	5.2	4.8	3.8	3.0	3.7	2.8
20	Infecciones respiratorias agudas	1.7	2.2	3.4	3.0	3.3	2.8

* Tasa por 100 mil habitantes.

** Para estandarizar las tasas por grupo de edad se tomó como población estándar la del país.

Fuentes: Poblaciones CONAPO, Estimaciones de la población en México 1996-2030; Defunciones INEGI/SSA.

8. MODELOS EXPERIMENTALES PARA INDUCIR LESIONES GÁSTRICAS EN ANIMALES

Los modelos experimentales de úlcera son utilizados para reproducir, tan cerca como sea posible, a como se presenta este padecimiento en los seres humanos (Galvin y Szabo, 1992). Los modelos de úlcera son métodos necesarios para evaluar la efectividad de los tratamientos antiulcerosos (Silen, 1988). A continuación se describen brevemente algunos de los modelos más comunes:

8.1. Lesiones gástricas inducidas por etanol

Las lesiones son producidas por la administración intragástrica de etanol en cantidades que van de 0.5 – 2.0 mL en concentraciones del 50-100%. El etanol produce un marcado incremento en la permeabilidad muscular, por lo que el daño vascular se presenta de 1-3 minutos después de la administración, antes de la aparición de lesiones hemorrágicas, las cuales aparecen de 1-2 horas después de la administración del etanol (Szabo *et al.*, 1985; Galvin y Szabo, 1992). El etanol a altas concentraciones promueve la solubilización de la capa de la mucosa gástrica, el agotamiento de la mucina intracelular con una difusión luminal de mucosustancias y la liberación de bicarbonato y de electrolitos a través del lumen. El etanol concentrado también causa una rápida destrucción de las células epiteliales de la mucosa con la formación de áreas necróticas, haciendo posible la penetración del etanol y macromoléculas a través del tejido subyacente lo que ocasiona que el daño gástrico pueda aumentar en su profundidad. Existe una relación entre el daño gástrico inducido por etanol con la reducción en los niveles de moco y de grupos sulfhidrilo (Szabo y Goldberg, 1990).

8.2. Lesiones gástricas inducidas por estrés

Se sabe que el estrés (ejercicio muscular forzado, lesión medular, inmovilización, etc.) provoca hipersecreción de ácido gástrico, incremento de la motilidad así como disminución en el riego sanguíneo de la mucosa gástrica, factores que contribuyen a la patogénesis de las lesiones gástricas. Las lesiones se desarrollan en la porción glandular del estómago (Nishiwaki *et al.*, 1989).

8.3. Lesiones gástricas inducidas por ligadura de píloro

Este método consiste en ligar el píloro permitiendo con ello la acumulación del contenido gástrico por un espacio de 4 a 18 h. lo que ocasiona que dicho contenido pueda provocar lesiones gástricas en la mucosa debido a la acción del ácido y pepsina (Shay *et al.*, 1945). Además la ligadura interfiere con la circulación sanguínea normal (Brzozowski, 2003). Este método permite evaluar agentes como antiácidos, antipepsina y antiseoretos (Shay *et al.*, 1945).

8.4. Lesiones gástricas inducidas por AINE's

Las lesiones inducidas por la administración de AINE's son debidas a que dichos fármacos inhiben la síntesis de prostaglandinas (necesarias para la protección de la mucosa gástrica) a través del bloqueo a las enzimas COX, además disminuyen cerca de un 70% la secreción basal de bicarbonato y bloquean completamente el incremento de la secreción del mismo inducido por la producción excesiva de ácido clorhídrico. (Szabo y Goldberg, 1990).

8.5. Lesiones gástricas inducidas por agentes necrosantes

Para producir lesiones gástricas a través de agentes necrosantes se pueden utilizar diversas sustancias entre las cuales podemos mencionar a: etanol 100%, ácidos fuertes (HCl 0.6 N), bases fuertes (NaOH 0.2 N), soluciones hipertónicas (NaCl 25%) y agua caliente. Las lesiones aparecen 1-2 horas después de la administración, usualmente se encuentran de 15 a 20 lesiones por estómago localizadas en el cuerpo (Robert, 1979; Robert *et al.*, 1983).

8.6. Lesiones gástricas inducidas por dieta de glucosa

Los animales se alimentan exclusivamente con solución de glucosa 10% (p/v, 50 mL) por 8 días consecutivos, las lesiones se pueden apreciar al término de este periodo como pequeñas lesiones (0.1 mm - 0.5 mm) ocasionadas por la secreción de ácido en el estómago sin alimento (Navarrete *et al.*, 2002).

9. TRATAMIENTOS

Los distintos fármacos utilizados en el tratamiento de la úlcera tienen como objetivo contrarrestar los factores agresivos o estimular los factores que defienden a la mucosa gástrica tales como moco, bicarbonato, flujo sanguíneo, óxido nítrico (Borrelli e Izzo, 2000). Los fármacos utilizados para el tratamiento de la úlcera gástrica se clasifican en: antiácidos, antisecretores y citoprotectores (Hoogerwerf y Pasricha, 2001).

9.1. Antiácidos

En esta familia farmacológica se incluye un grupo de compuestos inorgánicos cuya característica común, base de su acción terapéutica, es neutralizar al ácido clorhídrico, sin interferir directamente con los procesos de secreción. Los antiácidos se clasifican en dos grupos: antiácidos absorbibles y no absorbibles (Flores y Espulgues, 1999).

9.1.1. Antiácidos absorbibles

Los antiácidos absorbibles utilizados con mayor frecuencia son el NaHCO_3 y el CaCO_3 , sin embargo, no se recomiendan debido a que dentro de sus efectos colaterales pueden producir hipernantremia, pérdida de CO_2 , alcalinización de la orina y predispone a litiasis renal fosfática, además, la duración de su efecto es corta y se asocia a molestias difusas por la existencia de gases en el tubo digestivo tales como distensión abdominal y eructos con reflujo de ácido. (Hoogerwerf y Pasricha, 2001; Flores y Espulgues, 1999).

9.1.2. Antiácidos no absorbibles

Los antiácidos no absorbibles son sales inorgánicas que además de neutralizar parcialmente el ácido clorhídrico contenido en el estómago, inhiben la proteólisis originada por la pepsina. (Gallimore y Jordan, 2004). Este tipo de fármacos lo constituyen principalmente sales de aluminio y magnesio, pero cuando se realiza una combinación de ambas sales da por resultado una capacidad de neutralización relativamente rápida y prolongada (Hoogerwerf y Pasricha, 2001).

9.2. Antisecretores

Dentro de este grupo de fármacos podemos citar a los antagonistas de los receptores para histamina tipo H_2 , inhibidores de la bomba ATPasa H^+/K^+ , antimuscarínicos y antagonistas de la gastrina (Gallimore y Jordan, 2004).

9.2.1. Antagonistas de los receptores H_2

Los fármacos antagonistas de los receptores H_2 son utilizados en el tratamiento de la úlcera gástrica y duodenal. Existen cuatro antagonistas de los receptores H_2 en el mercado: la ranitidina, la cimetidina, la famotidina y la nizatidina. Los antagonistas de los receptores H_2 inhiben de manera competitiva y reversible la producción del ácido gástrico debido a la unión con los receptores H_2 sobre la membrana basolateral de las células parietales. Los antagonistas de los receptores H_2 inhiben la secreción basal y nocturna así mismo la secreción de ácido estimulada por la ingesta de alimentos. Este tipo de fármacos reducen el volumen del jugo gástrico secretado, la concentración de protones, y también disminuyen la secreción del factor intrínseco. (Hoogerwerf y Pasricha, 2001). La incidencia de efectos adversos al consumir este tipo de fármacos es <3%. Los efectos secundarios más frecuentes incluyen diarrea, dolor de cabeza, somnolencia, fatiga, dolor muscular, constipación y pérdida de libido. Entre los factores adversos presentados raramente se encuentran confusión, delirio y alucinación, los cuales pueden ocurrir principalmente por la administración intravenosa. En algunos casos se ha observado ginecomastia en hombres y galactorrea en mujeres, estos padecimientos pueden ocurrir debido a la unión de la cimetidina con receptores androgénicos y por la inhibición del citocromo P450 que cataliza la hidroxilación del estradiol (Hoogerwerf y Pasricha, 2001).

9.2.2. Fármacos inhibidores de la bomba de protones

Los fármacos inhibidores de la bomba de protones son profármacos principalmente indicados en el tratamiento de úlceras gástricas y duodenales, así como para tratar el reflujo esofágico y el síndrome Zollinger-Ellison. (Hoogerwerf y Pasricha, 2001). Este tipo de fármacos son indudablemente los más efectivos supresores de la secreción de ácido. Entre los fármacos que ejercen su acción mediante este mecanismo encontramos: al omeprazol, el lanzoprasol, el rabeprazol y el pantoprazol. (Hoogerwerf y Pasricha, 2001).

Estos agentes entran a la célula parietal mediante el flujo sanguíneo, acumulándose en los conductos secretores donde son activados debido a un proceso de protonación que resulta en un ácido sulfénico y una sulfenamida. Esta forma reactiva reacciona con el grupo sulfhidrilo de la cisteína del dominio extracelular de la H^+/K^+ ATPasa. La unión a la cisteína es esencial para la inhibición de la secreción del ácido (Hoogerwerf y Pasricha, 2001).

Entre los efectos adversos se incluyen: náusea, dolor abdominal, constipación, flatulencias, diarrea, miopatía, altrargías, dolores de cabeza y erupciones cutáneas. Pero dichos efectos se presentan en raras ocasiones y cuando esto sucede son bien tolerados (Hoogerwerf y Pasricha, 2001).

9.2.3. Antimuscarínicos

Este tipo de compuestos como la pirenzepina bloquean los receptores muscarínicos del tipo M_1 inhibiendo la secreción gástrica estimulada por acetilcolina (Bays y Finch, 1990).

El uso de la pirenzepina está limitado por sus efectos adversos entre los que se

encuentran resequedad de boca, visión borrosa, estreñimiento, midriasis la cual puede ser peligrosa en enfermos con glaucoma, retención urinaria y retardo del vaciamiento gástrico. La reacción adversa más grave es el estado de confusión mental con pérdida de memoria reciente, el peligro de su aparición aumenta con la edad. (Flores y Espulgues, 1999). Entre otros antimuscarínicos se encuentran también la metantetalina, la propantetalina, la danrazepina y la telenzepina (Bertaccini y Coruzzi, 1985).

9.2.4. Antagonistas de la gastrina

Diversas sustancias funcionan como antagonistas de la gastrina, debido a su gran similitud estructural con la colecistocinina, incluyendo derivados del ácido glutarámico (proglumida), análogos del triptófano (benzotript), análogos de las benzodiazepinas (L365, 260). Todos estos compuestos inhiben en mayor o menor medida la interacción de la gastrina con su receptor. Sin embargo, en la actualidad no existe aplicación clínica de ningún antagonista de los receptores para la gastrina, solo representan una posibilidad teórica sin que se haya demostrado su utilidad práctica (Flórez y Espulgues, 1999).

9.3. Citoprotectores

La 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 la prevención de la hemorragia causada por el daño a 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: citoprotección directa y citoprotección adaptativa (Konturek, 1990).

Originalmente se definió a la citoprotección directa como la protección de la mucosa gástrica (gastroprotección) debida a la administración de prostaglandinas exógenas (Konturek, 1990; Tsukimi y Okabe, 2001), sin embargo existen otras sustancias que no son prostaglandinas y que tienen este efecto, así que actualmente se puede definir a la gastroprotección directa como la protección de la mucosa gástrica por la administración de sustancias exógenas incluidas las prostaglandinas.

La citoprotección adaptativa se ha denominado así debido a que está mediada por la liberación endógena de las prostaglandinas de la mucosa gástrica (Konturek, 1990; Szabo y Goldberg, 1990; Tsukimi y Okabe, 2001). Puede ser inducida por la aplicación de ciertos irritantes suaves tales como: etanol del 10-20 %, cloruro de sodio del 2-4 %, café, chile o agua a 70 °C, los cuales previenen las lesiones macroscópicas de la mucosa provocadas por agentes necrosantes como son: etanol al 100 %, ácido clorhídrico 0.6M, e hidróxido de sodio 0.2M (Robert, 1979; Robert *et al.*, 1983).

La importancia de las prostaglandinas endógenas en la modulación de los mecanismos de defensa de la mucosa, se hace evidente por las diversas observaciones que apuntan a que los analgésicos no esteroideos que son potentes inhibidores de la síntesis de prostaglandinas, son capaces de dañar a la mucosa gástrica. La generación local de prostaglandinas en la mucosa gástrica es considerada como la responsable de la

adaptación de la mucosa al ataque de los agentes irritantes (Robert, 1979; Peskar y Maricic, 1998).

Debido a que las prostaglandinas incrementan el flujo sanguíneo en la mucosa gástrica, se ha sugerido que el efecto citoprotector se debe a respuestas vasculares ante la presencia de agentes nocivos para la mucosa gástrica, aunque éste no es el único mecanismo de protección implicado. Al respecto se sabe que las prostaglandinas además son capaces de estimular la secreción de moco y bicarbonato y de esta forma incrementar el pH en el epitelio gastro-duodenal. También las prostaglandinas reducen la secreción de ácido e incrementan la capa de los fosfolípidos. Estudios microscópicos han revelado que el mayor impacto citoprotector de las prostaglandinas es a nivel de la submucosa y no tanto en la superficie de la mucosa (Konturek *et al.*, 1987; Shorrock y Rees, 1988; Atay *et al.*, 2000).

9.3.1. Mecanismos de citoprotección

En general los mecanismos para proteger la mucosa gástrica de los factores agresivos como el ácido clorhídrico, la bilis, los fármacos anti-inflamatorios y varios tipos de estrés, consisten en factores funcionales, humorales y neuronales. La secreción de moco alcalino, la capa de fosfolípidos, la microcirculación y la motilidad son acciones funcionales; la síntesis y secreción de prostaglandinas así como la liberación de óxido nítrico (NO) son acciones humorales. Las neuronas sensibles a capsaicina desencadenan acciones neuronales (Tsukimi y Okabe, 2001).

9.3.1.1. Factores funcionales

La motilidad juega un papel importante en la prevención de las lesiones provocadas por estrés así como por los fármacos anti-inflamatorios no esteroideos (Tsukimi y Okabe, 2001). Mersereau e Hinchey en 1982, fueron los primeros que reportaron la importancia de la hipermotilidad del estómago en la génesis de las lesiones gástricas en respuesta a los AINE's. La alta amplitud de las contracciones y la restricción temporal del flujo sanguíneo de la mucosa provocadas por los AINE's reducen la resistencia de la mucosa gástrica. La hipermotilidad inducida por los AINE's esta relacionada con una deficiencia de prostaglandinas causada por la inhibición de la COX1, lo que sugiere que las prostaglandinas provenientes de la COX1 participan de manera importante en la reducción de la motilidad gástrica lo que se traduce en una protección para la mucosa gástrica (Tanaka *et al.*, 2001).

El moco gástrico participa en la protección de la mucosa gástrica por la formación de una capa viscosa, que impide que el ácido difunda libremente hacia el tejido muscular (Takahashi *et al.*, 1999). La viscosidad de la capa de moco es la primera línea de defensa en contra del contenido luminal, este participa en la disminución del daño gástrico causado por el ácido en el estómago y duodeno. La secreción de moco es provocada por el ácido luminal y las prostaglandinas entre otros (Akiba *et al.*, 2002).

Así mismo la secreción de bicarbonato a través de la mucosa gastrointestinal forma parte de la barrera moco-bicarbonato del estómago, este neutraliza el ácido que se encuentra en la mucosa gástrica y duodenal y en consecuencia contribuye así a la protección de la mucosa gástrica (Allen *et al.*, 1993; Tsukimi y Okabe, 2001). Una gran variedad de sustancias, incluyendo las prostaglandinas, péptido intestinal vasoactivo y teofilina han

demostrado estimular a la secreción de bicarbonato tanto *in vivo* como *in vitro* (Furukawa *et al.*, 1999; Takahashi *et al.*, 1999).

Finalmente el flujo sanguíneo también forma parte de los factores funcionales que protegen a la mucosa gástrica. Se ha demostrado que existe un incremento en el flujo sanguíneo de la mucosa gástrica después de un tratamiento con irritantes suaves, al igual que con la administración local de capsaicina. Cuando las neuronas sensibles a capsaicina son destruidas o desensibilizadas, las lesiones gástricas empeoran, lo que sugiere que la microcirculación tiene un papel muy importante en la protección de la mucosa gástrica (Holzer y Sametz, 1986; Holzer, 1998; Tsukimi y Okabe, 2001).

9.3.1.2. Factores humorales

La integridad de la mucosa gástrica necesita de una regeneración continua de la prostaglandina E₂ y la prostaciclina (PGI₂). La mayoría de los mecanismos de defensa de la mucosa son estimulados o facilitados por las prostaglandinas endógenas o exógenas. La inhibición de la síntesis de prostaglandinas por los AINE's da como resultado un incremento en la susceptibilidad del daño a la mucosa, especialmente en presencia de una disminución en la síntesis de óxido nítrico. El daño gástrico inducido por la supresión de la síntesis de prostaglandinas puede ser prevenido por la administración de donadores de óxido nítrico (Atay *et al.*, 2000).

Las prostaglandinas se encuentran ampliamente distribuidas en el sistema digestivo y están involucradas en cierto número de procesos fisiológicos incluyendo la motilidad, flujo sanguíneo, secreción de moco-bicarbonato y reducción de la secreción de ácido.

Esta demostrado que la prostaglandina E₂ modula la secreción de ácido en el estómago a través del bloqueo del incremento de AMPc, debido a que en la célula parietal la prostaglandina E₂ interactúa con el receptor EP₃ el cual se encuentra acoplado con una proteína Gi, con la consecuente inhibición de la adenilato ciclasa y por tanto se efectúa una disminución de la concentración de AMPc, el cual es requerido por la bomba intercambiadora H⁺/K⁺ (Atay *et al.*, 2000).

La prostaglandina E₂ también regula la secreción de moco-bicarbonato, debido a que en la célula parietal interactúa tanto con el receptor EP₄ como con el receptor EP₁ los cuáles se encuentran acoplados a proteínas Gs, que al ser estimuladas activan a la adenilato ciclasa y por consiguiente se produce AMPc el cual activa a una proteína-quinasa dependiente de AMPc, que es la encargada de fosforilar a otras proteínas que son las que regulan la secreción de moco y bicarbonato (Takahashi *et al.*, 1999).

Estudios *in vitro* han demostrado que las prostaglandinas endógenas promueven una contracción tónica en el músculo liso del estómago proximal. En contraste el efecto dominante de las prostaglandinas en el estómago distal es la de provocar tanto una disminución en la amplitud de las contracciones como en la habilidad de los músculos para responder a estímulos excitatorios. Sin embargo los efectos de las prostaglandinas en la motilidad son complejos (Atay *et al.*, 2000).

Se ha descrito que los agentes liberadores de NO tales como nitroglicerina y nitroprusiato de sodio inhiben los daños hemorrágicos de la mucosa gástrica inducidas por ácido clorhídrico 50mM o etanol al 70 %. Por el contrario los inhibidores de la óxido nítrico sintasa (SON) tales como N^g-nitro-L-arginina (L-NA) y el éster metílico de N^G-nitro-L-arginina (L-NAME) inhiben la acción citoprotectora de los irritantes suaves, por lo que se

considera que el NO tiene un papel muy importante en el mantenimiento de la integridad de la mucosa, ya sea provocando vaso relajación o promoviendo la síntesis de prostaglandinas (Tsukimi y Okabe, 2001).

El mecanismo molecular por el cual el óxido nítrico activa a la COX permanece aun indefinido, las posibilidades son: 1) efecto antioxidante: el anión superóxido (O_2^-) es generado durante la activación de la COX, se ha postulado que esta involucrado en una auto-inactivación de la enzima COX. El NO interactúa con el O_2^- y limita las cantidades necesarias del radical para generar la auto-inactivación, 2) formación de nitrosotioles: el NO nitrosila residuos de cisteína en el dominio catalítico de la COX, la formación de los nitrosotioles, puede provocar un cambio en la estructura de la enzima lo que da como resultado un incremento en la eficacia catalítica de la enzima y 3) generación de peroxinitritos: cuando la cantidad de NO y O_2^- se incrementan, como sucede en una respuesta inflamatoria, el NO y O_2^- interactúan y forman la molécula citotóxica peroxinitrito que al descomponerse genera el $OH\cdot$ el cual interactúa con la COX y provoca un cambio conformacional en la enzima, dando como resultado final un incremento en la actividad catalítica de la COX (Elliot y Wallace, 1998; Salvemini, 1997).

9.3.1.3. Factores neuronales

Las neuronas sensibles a capsaicina también contribuyen a la protección de la mucosa. Se ha demostrado que la aplicación local de capsaicina da como resultado una activación neuronal y liberación de neuropéptidos, tales como sustancia P, calcitonina y

neuroquinina. Se ha demostrado que la abolición de los nervios sensoriales agravan las lesiones de la mucosa provocadas por agentes necrosantes. La administración local de capsaicina causa una respuesta hiperémica en la mucosa gástrica, la cual es inhibida por la abolición de los nervios sensoriales, lo que sugiere que las neuronas sensoriales regulan la afluencia sanguínea de la mucosa (Holzer y Sametz, 1986; Holzer, 1998; Tsukimi y Okabe, 2001).

9.3.2. Fármacos citoprotectores

Las prostaglandinas fueron las primeras sustancias en clasificarse como sustancias citoprotectoras, actualmente se incluyen dentro de éste grupo a ciertas sustancias que tienen actividad semejante al de las prostaglandinas o que promueven su biosíntesis. Entre los compuestos citoprotectores se incluyen al sucralfato, las sales de bismuto y a la carbenoxolona (Hoogerwerf y Pasricha, 2001).

9.3.2.1. Sucralfato

Dentro de los agentes citoprotectores tenemos al sucralfato el cual es una base de aluminio que en condiciones ácidas puede formar una sustancia viscosa que se une a la superficie de la mucosa, su mecanismo de acción es a través del mejoramiento de la secreción de moco y bicarbonato, induciendo la producción de prostaglandinas (Ligmusky *et al.*, 1984) y promoviendo la reepitelización (Calum *et al.*, 2000). El efecto adverso que con mayor frecuencia se reporta es la constipación. (Hoogerwerf y Pasricha, 2001).

9.3.2.2. Sales de Bismuto

Los compuestos de bismuto pueden ser tan efectivos como la cimetidina en pacientes con úlcera gástrica, se unen a la base de la úlcera promoviendo la producción de prostaglandinas y mucina, además de poseer un importante efecto bactericida (Hoogerwerf y Pasricha, 2001). Estos compuestos no tienen capacidad neutralizante para el ácido clorhídrico si no que inhiben a la pepsina, aumentan la secreción de moco e interactúan con proteínas en el cráter necrótico de la úlcera y forman una barrera contra la difusión del ácido. Los coloides de bismuto también producen desprendimiento de *Helicobacter pylori* del epitelio gástrico, con la consiguiente eliminación de la bacteria (Brunton, 1996).

9.3.2.3. Carbenoxolona

La carbenoxolona es un triterpeno pentacíclico derivado de la hidrólisis del ácido glicirrízico, ha sido utilizado en Europa por muchos años como un compuesto antiulcerante con eficacia moderada. Su mecanismo de acción no es totalmente claro pero se cree que puede alterar la composición y cantidad de mucina (Hoogerwerf y Pasricha, 2001), incrementar la vida media del epitelio gástrico, inhibir la actividad péptica y la difusión del ácido, estimular la secreción de moco y bicarbonato, incrementar la producción de prostaglandinas e inhibir a las enzimas que las metabolizan (Takeuchi *et al.*, 1998). Desafortunadamente es un congénere de los esteroides así que su uso es limitado debido a su actividad mineralocorticoide con lo cual en muchos casos se genera retención de sodio y líquidos, hipertensión, hipopotasemia y trastorno de la tolerancia a la glucosa. (Hoogerwerf y Pasricha, 2001).

9.3.2.4. Análogos de las prostaglandinas

Debido a que la administración de prostaglandinas puede proteger a la mucosa gástrica contra diversas agresiones ulcerogénicas, se han desarrollado análogos de metabolización lenta (O'Brien *et al.*, 1986). Estos incluyen al misoprostol y rioprostil análogos de la PGE₁, y arbaprostil, emprostil y trimoprostil derivados de la PGE₂. Estos fármacos están indicados para la prevención de daño a la mucosa causado por AINE's (Hoogerwerf y Pasricha, 2001; Flórez y Espulgues, 1999).

El efecto adverso más comúnmente reportado por la administración de misoprostol es la diarrea con o sin dolor abdominal y calambres. El misoprostol esta contraindicado en mujeres embarazadas ya que es un potente abortivo, pues incrementa las contracciones uterinas. (Hoogerwerf y Pasricha, 2001).

9.4. Citoprotección independiente de prostaglandinas

Esta protección incluye sustancias citoprotectoras que no estimulan la biosíntesis de prostaglandinas en la mucosa gástrica. Entre estos compuestos se encuentran los grupos sulfhidrilos, el factor de crecimiento epidérmico, la somatostatina y el meciadanol (Szabo y Goldberg, 1990).

9.4.1. Grupos sulfhidrilos

En 1981 Szabo *et al.* reporto que los compuestos que contienen grupos sulfhidrilo protegen a la mucosa de las erosiones inducidas por etanol. De estas observaciones se deduce que los grupos sulfhidrilos son citoprotectores de la mucosa gástrica y que puede mediar la citoprotección inducida por las prostaglandinas. Los grupos sulfhidrilos son

requeridos para la síntesis de prostanoides y para la activación de los receptores de las prostaglandinas, ellos mismos son directamente responsables de la defensa de la mucosa ya que influyen en la permeabilidad de la membrana y atrapamiento de radicales libres (Szabo *et al.*, 1981; Konturek *et al.*, 1987; Shorrock y Rees, 1988; Maity *et al.*, 1998).

9.4.2. Factor de crecimiento epidérmico

El factor de crecimiento es un polipéptido producido por las glándulas salivales y de Brunner, este estimula la síntesis del ARN y ADN en la mucosa, los cuales favorecen el crecimiento y la diferenciación celular de tal forma que se acelera la reparación de la mucosa gástrica. El factor de crecimiento es un poderoso inhibidor de la secreción ácido gástrica, además a dosis no antiselectoras protege al estómago de las erosiones agudas producidas por aspirina, se ha demostrado que es tan efectivo como la cimetidina en la curación de las úlceras duodenales crónicas en ratas, también previene la formación de las úlceras producidas por estrés en ratas, dicho efecto puede estar mediado por la somatostatina endógena. Sin embargo, el papel del factor de crecimiento epidérmico en la defensa gastroduodenal humana no ha sido del todo definida (Shorrock y Rees, 1988; Allen *et al.*, 1993).

9.4.3. Meciadanol

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 lo que puede deberse a la inhibición de la formación de histamina en la mucosa (Konturek, 1990).

9.4.4. Sulglicótido

El sulglicótido es un glicopéptido en forma de sal de sodio. Éste se comporta como agente que cubre la mucosa, su acción citoprotectora parece estar relacionada con el aumento de la expresión de la sintasa del óxido nítrico constitutivo, con la intervención en el mecanismo de apoptosis de las células epiteliales y con la estabilización de la estructura lisosomal en las células de la mucosa (Brunton, 1996; Bronislaw *et al.*, 1999).

9.4.5. Alginato

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

10. PRINCIPIOS ACTIVOS AISLADOS DE PLANTAS CON ACTIVIDAD ANTIULCEROSA

Existen diversos metabolitos aislados de plantas que han mostrado actividad gastroprotectora a continuación se describen algunos de ellos (Borrelli e Izzo, 2000).

10.1. Flavonoides

Los flavonoides son un grupo de cerca de 4000 compuestos naturales con un amplio rango de efectos terapéuticos, incluyendo actividad gastroprotectora. Entre los

mecanismos propuestos para explicar los efectos gastroprotectores de los flavonoides se encuentran: aumento del contenido de prostaglandinas en la mucosa, disminución de la secreción de histamina por inhibición de la histidina descarboxilasa e inhibición del crecimiento de *Helicobacter pylori*, además de atribuírseles el efecto de depuración de radicales libres, los cuales juegan un papel importante dentro de la erosión y la ulceración en el tracto gastrointestinal. Debido a su baja toxicidad y a sus amplias propiedades reportadas se pronostica a los flavonoides como compuestos con elevado potencial terapéutico para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales asociadas con infección por *Helicobacter pylori*, gastritis, y úlcera duodenal. (Borrelli e Izzo, 2000).

Los flavonoides con actividad gastroprotectora que más ampliamente se han estudiado son: la naringina, la quercetina, la silimarina, las antocianocidas y algunos derivados de la soforadina. La (-) epicatequina se aisló e identificó como metabolito responsable de la actividad gastroprotectora en la corteza de la raíz de *Hippocrate excelsa*, sin embargo, a diferencia de otros flavonoides este metabolito no inhibe la secreción ácida (Navarrete *et al.*, 2002).

Muchos extractos que contienen flavonoides han demostrado poseer actividad gastroprotectora, sin embargo no se han caracterizado tales flavonoides (Borrelli e Izzo, 2000).

10.2. Saponinas

Las saponinas son generosamente distribuidas en plantas, particularmente en forma de glicósidos. De acuerdo con su estructura de aglicona o sapogenina, se reconocen dos tipos de saponinas; esteroidales o tipo triterpenoide (Borrelli e Izzo, 2000).

Diversas plantas contienen cantidades altas de saponinas, las cuales han demostrado actividad gastroprotectora, algunas de ellas son: *Calendula officinalis*, *Calliandra portoticensis*, *Glycyrrhiza glabra* entre otras. La actividad gastroprotectora de estas plantas probablemente se debe más a la activación de factores protectores de la membrana, que a la supresión de la secreción de ácido (Borrelli e Izzo, 2000).

10.3. Taninos

Los taninos son primordialmente utilizados en la terapéutica por sus propiedades astringentes, son capaces de alterar la capa exterior de la mucosa logrando disminución de la permeabilidad y aumentando la resistencia al daño o irritación por agentes químicos o mecánicos. Cuando bajas concentraciones de taninos son aplicadas a la mucosa gástrica únicamente la capa exterior es transformada, haciéndola menos permeable, lo que conlleva a incrementar la protección de la misma contra: bacterias, irritación química e irritación mecánica, en cambio altas concentraciones de taninos provocan coagulación de las proteínas de capas más profundas de la mucosa, resultando en inflamación, diarrea, y vomito. (Borrelli e Izzo, 2000).

10.4. Gomas y mucílagos

Las gomas y mucílagos son sustancias quebradizas, amorfas, transparentes o traslúcidas que absorben agua fácilmente formando masas gelatinosas o soluciones coloidales viscosas. El carácter coloidal de las gomas, mucílagos y otros mucoides proporciona amplios usos terapéuticos para dichas sustancias. Los fármacos mucílaginosos tienen la propiedad de cubrir y proteger la mucosa del estómago por lo que son usados en el

tratamiento de la úlcera gástrica, un ejemplo de plantas que contienen mucílagos son: *Althaea officinalis*, *Cetraria islandica*, *Malva silvestres*, *Matricaria chamomilla* y distintas especies de Aloe (Borrelli e Izzo, 2000).

Una goma ampliamente utilizada por su actividad gastroprotectora es la goma guar la cual es obtenida de las semillas de *Cyamopsis tetragonolobus*, su principal constituyente es el galactomanan el cual se encuentra unido a polisacáridos. La goma guar incrementa la velocidad de recuperación cuando se induce daño gástrico por estrés en ratas. Los mecanismos de acción gastroprotectores propuestos para esta goma son: reducción de la acidez, incremento en la secreción de moco y protección mecánica, sin embargo, en pacientes con úlcera duodenal, la goma guar, disminuye tanto la acidez gástrica como la velocidad de vaciado del contenido gástrico probablemente debido a su viscosidad y a la capacidad de neutralización del ácido gástrico que posee (Borrelli e Izzo, 2000).

10.5. Alcaloides

Una gran variedad de alcaloides tales como escopolamina, anisodina, anisodanina, aislados de *Scopolia*, son efectivos agentes antiulcerosos en distintos modelos de úlcera. Dichos alcaloides pueden inhibir la secreción gástrica de ácido y la actividad de la pepsina e incrementar la barrera de la mucosa (Zhang *et al.*, 1990)

De la raíz de *Sophora sobprostrata* se aislaron alcaloides como son la matrina y la oximatrina los cuales inhiben la secreción gástrica en ratas e inhiben la formación de úlceras (Yamasaki, 1983).

10.6. Aceites

El aceite volátil de *Hyptis mutabilis* Briq posee un efecto gastroprotector en ratas sobre lesiones inducidas por indometacina administrada por vía subcutánea (Barbosa y Ramos, 1992). La emulsión formada con aceite de la semilla de *Brucea javanica*, inhibió significativamente las lesiones gástricas inducidas por ligación de píloro, aspirina, estrés y úlcera gástrica crónica por ácido acético en ratas (Xue *et al.*, 1996).

10.7. Triterpenoides

El ácido oleanólico que puede ser extraído de *Prosopis glamulosa*, *Calendula*, *Heliantus* y *solidazo*, es un triterpeno que presenta actividad antiulcerosa en úlceras inducidas por aspirina, indometacina, reserpina y tetragastrina. La aspirina e indometacina disminuyen los niveles de prostaglandinas, por lo que es probable que el ácido oleanólico promueva la producción de prostaglandinas. Otros ejemplos de triterpenoides son el acetato de β -lupeol aislado de *Spilanthes ocyimifolia*, el tarexerol aislado de *Taraxacum officinale* y el ácido ursólico aislado de *Psychotria adenophylla*, dichos triterpenos inhiben o reducen las ulceraciones por estrés en ratas (Gupta *et al.*, 1981; Snykers y Fourie, 1989), el acetato de β -lupeol reduce además las lesiones en el modelo de ligadura de píloro, sin embargo no se sabe cual es su posible mecanismo de acción (Lewis y Hanson, 1991). Del extracto metanólico de la corteza de *Amphyterygium adstringens* se aislaron e identificaron al ácido 3- α hidroximasticadienónico, al ácido 3-*epi*-oleanólico y al β -sitosterol como los compuestos responsables de la acción gastroprotectora de esta planta medicinal en el modelo de inducción de lesiones gástricas por etanol absoluto (Navarrete

et al., 1990; 1998; Arrieta *et al.*, 2003). De la corteza de la raíz de *Hippocrate excelsa* se aislaron e identificaron al sitosterol-3-*O*- β - glucósido, al β -sitosterol y la mezcla de α - y β -amirinas como los metabolitos responsables de la actividad gastroprotectora en el modelo de lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas (Navarrete *et al.*, 2002).

11. Plantas con actividad gastroprotectora

Existen numerosas plantas utilizadas recurrentemente a nivel mundial para el tratamiento de la úlcera gástrica, entre las cuales podemos mencionar a: liquorice, Aloe gel, y Chile (Capsaicina) entre otras.

La corteza y raíz de diferentes variedades de *Glycyrrhiza glabra* (leguminosa) han sido utilizadas ampliamente en la medicina tradicional por su actividad gastroprotectora. El principal constituyente del liquorice es el ácido glizirricínico, una saponina triterpenoide demostró que la glizirricina (sal del ácido glizirricínico) inhibe el daño gástrico en ratas y también previene la ulceración gástrica causada por la administración de ácido acético. (Borrelli e Izzo, 2000).

El Aloe gel ejerce efectos curativos cuando es administrado como tratamiento en ratas con lesiones gástricas inducidas por estrés, pero no lo es en lesiones provocadas por etanol, no se ha precisado su mecanismo de acción (Borrelli e Izzo, 2000).

El chile o capsaicina posee efectos gastroprotectores contra las lesiones inducidas por etanol o aspirina en la mucosa gástrica de ratas, cuando es administrada por periodos prolongados (360 mg /día por 4 semanas) previene contra las hemorragias gástricas. La capsaicina ha sido extensamente utilizada para elucidar la función de las neuronas sensibles en varios órganos y sistemas (incluyendo estómago), ya que posee la habilidad

de excitar y con dosis elevadas destruir a un subconjunto de neuronas primarias aferentes. (Borrelli e Izzo, 2000). Entre los mecanismos descritos para la capsaicina se encuentra el aumento de flujo sanguíneo, liberación del péptido del gen relacionado con la calcitonina y del óxido nítrico además de intervenir en la producción de prostaglandinas (Borrelli e Izzo, 2000).

12. *Astragalus sp.*

Diversas especies de *Astragalus* son utilizadas ampliamente en la medicina tradicional de China y Turkia ya que se les atribuyen una amplia gama de efectos biológicos. Etnomedicamento *Astragalus* es utilizada como: antitranspirante, diurético, expectorante, analgésico, inmunoestimulante (Du *et al.*, 2003), antiinflamatorio, antibiótico (Gu *et al.*, 2004) y para el tratamiento de enfermedades tales como: leucemia (Yesilada *et al.*, 2005), colitis (Ko *et al.*, 2005), diabetes mellitus, nefritis, cáncer uterino (Bedir *et al.*, 1998) y dermatitis atópica intratable (Kobayash *et al.*, 2004) entre muchas otras. Asimismo se utiliza como auxiliar en el tratamiento de los síntomas de la menopausia (Zhang, C. *et al.*, 2005) y del tabaquismo (Lee, 2005).

Algunos de sus efectos han sido comprobados experimentalmente: Efecto protector de la mucosa intestinal (Hei *et al.*, 2005), neuroprotector sobre lesiones isquémicas cerebrales de ratas (Jia *et al.*, 2003), antimutagénico (Wang *et al.*, 2003), efectos antifibróticos sobre hígado de rata (Liu *et al.*, 2005), reductor de la carga de calcio intracelular y del retículo sarcoplásmico, antioxidante (Meng *et al.*, 2005), hipoglucemiante (Wu *et al.*, 2005), reductor de la carga viral en pacientes con VIH (Kusum *et al.*, 2004), aumento de la motilidad de espermatozoides (Liu *et al.*, 2004), antihipertensivo (Li *et al.*, 2005),

relajador de músculo liso (aorta de rata) (Zhang, B. *et al.*, 2005), antinociceptivo (Yang *et al.*, 2001), antienvjecimiento (Lei *et al.*, 2003) y citotóxico sobre varias líneas celulares cancerosas (Verotta *et al.*, 2001).

12.1. Astragalósido IV

Astragalósido IV (3-*O*- β -D-xilopiranosil-6-*O*- β -D-glucopiranosilcicloastragenol, Fig. 1) es un glicósido triterpénico tipo cicloartano característico de diversas especies de *Astragalus*. Astragalósido IV es una saponina con un hidroxilo derivado en la posición C3; pertenece a un grupo de saponinas farmacológicamente activas descritas en especies de *Astragalus*, al cual se le han comprobado distintos efectos biológicos como son: actividad cardioprotectora (Zhang, W. *et al.*, 2005), inmunoestimulante (Yesilada *et al.*, 2005), protector contra lesiones isquémicas en cerebro y daño al miocardio (Zhou *et al.*, 2000; Lou *et al.*, 2004) efectos antibióticos (Calis *et al.*, 1997), antioxidante (Ma y Yang 1999) y actividad antiinflamatoria tanto in vivo como in vitro (Zhang *et al.*, 2003).

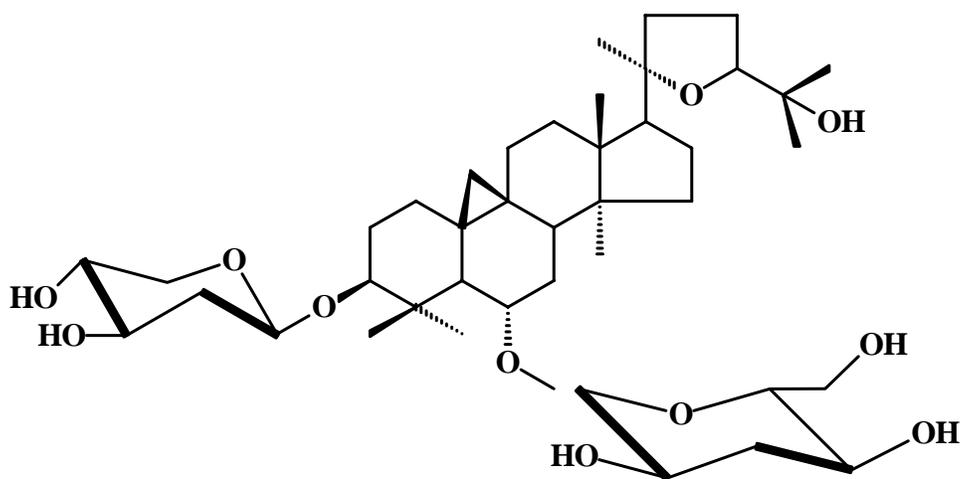


Figura 2. Estructura del Astragalósido IV.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

De acuerdo con la hipótesis planteada, en donde se propone que para que un triterpeno o un esteroles ejerzan actividad gastroprotectora, es necesario que posean un grupo hidroxilo libre o derivado en el carbono 3 de su estructura (Navarrete *et al.*, 2002; Arrieta *et al.*, 2003). El presente trabajo se orientó a evaluar la actividad gastroprotectora del Astragalósido IV, un cicloartano glicosídico que cumple con las características estructurales anteriormente mencionadas. Con lo anterior se pretende dar un mayor soporte a la hipótesis planteada por Navarrete y colaboradores (Navarrete *et al.*, 2002). Adicionalmente, este trabajo también se orientó a determinar la participación del óxido nítrico, prostaglandinas y grupos sulfhidrilo en el mecanismo de acción gastroprotector del Astragalósido IV.

IV. HIPÓTESIS

Considerando que el Astragalósido IV posee un hidroxilo derivado con D-xilopiranosilo en la posición C3, se espera que ejerza actividad gastroprotectora en el modelo de inducción de lesiones gástricas con etanol en ratas Wistar y que el óxido nítrico, las prostaglandinas y los grupos sulfhidrilos se encuentren involucrados en su mecanismo de acción.

V. OBJETIVO

Evaluar la actividad gastroprotectora del Astragalósido IV en el modelo de inducción de lesiones gástricas por etanol en ratas, así como determinar el grado de participación del óxido nítrico, las prostaglandinas y los grupos sulfhidrilos en su mecanismo de acción.

VI. METODOLOGÍA

6.1. Material vegetal

Las raíces de *Astragalus zahlbruckneri* Hand-Mazz (Leguminosa) se colectaron en Sivrice, situado a 28 kilómetros al suroeste de Elazig, este de Anatolia, Turquía en Junio de 1999. Un espécimen de referencia se depositó en el herbario del Departamento de Farmacognosia, de la Facultad de Farmacia, de la Universidad de Hacettepe, Ankara Turquía con el número de registro HUEF 99-047, a través del Dr. Hassan Abou Gazar (Universidad de Hacettepe).

6.2. Aparatos

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Electrothermal Digital IA9100 sin corregir. Los espectros de infrarrojo se realizaron en pastillas de KBr utilizando un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 599. Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno (RMN-¹H, 300 MHz) y de carbono 13 (MNR-¹³C, 75.5 MHz) se registraron en un espectrómetro Varian VXR-3005 en piridina deuterada (C₅D₅N). Las rotaciones ópticas se determinaron con un polarímetro Perkin-Elmer 241 usando metanol como disolvente. Los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas Hewlett-Packard modelo 5890.

6.3. Extracción y fraccionamiento de las raíces del *Astragalus*

El Astragalósido IV se aisló de las raíces *Astragalus zahlbruckneri*. Las raíces secas y molidas (450 g) se extrajeron a reflujo con etanol acuoso al 80 % (3 litros dos veces). Ambos extractos se combinaron y el etanol acuoso se evaporó a presión reducida con la

ayuda de un evaporador rotatorio, obteniéndose 54 g de extracto crudo (12 % de rendimiento). Una muestra del extracto (40 g) se pre-adsorbió con 40 g de gel de sílice para cromatografía en columna. Una vez adsorbido el extracto, se procedió a la separación por cromatografía en columna abierta, empacada con 600 g de gel de sílice. La columna se eluyó empleando diferentes gradientes de la mezcla de: diclorometano-metanol-agua (90:10:1, 1500 mL; 80:20:2, 1000 mL; 70:30:3, 1000 mL; 60:40:4, 1700 mL y 50:50:5, 1000 mL) obteniéndose un total de 12 fracciones, reunidas de acuerdo a sus propiedades cromatográficas en capa fina (Fracciones de la A-L): A, 500 mg; B, 500 mg; C, 733 mg; D, 1860 mg; E, 1640 mg; F, 737 mg; G, 1300 mg; H, 4730 mg; I, 4700 mg; K, 4700 mg y L, 5800 mg. De la fracción J se obtuvieron unos cristales incoloros que por recristalización con metanol proporcionaron al Astragalósido IV (4500 mg). La estructura del compuesto se determinó de acuerdo a sus propiedades físicas y espectroscópicas: IR (KBr) ν_{\max} 3400, 2930, 1040 cm^{-1} ; FAB⁺ MS: $m/z = 807 [M + Na]^+$; $[\alpha]_D^{20}$: + 19.3 (c 0.4 MeOH); RMN H¹ (300 MHz, C₅D₅N): fragmento aglicona d 3.22 ((1H, m, H-3), 1.63 (1H, d, $J = 9.0$ Hz H-5), 4.67 (1H, ddd, $J = 7.5, 7.5, 7.0$ Hz, H-16), 2.38 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-17), 1.27 (3H, s, Me-18), 0.29 y 0.62 (Cada 1H, d, $J_{AB} = 4.4$ Hz, H-19^a y H-19^b respectivamente), 1.23 (3H, s, Me-21), 3.80 (1H, dd, $J = 8.0, 7.0$ Hz, H-24), 1.15 (3H, s, Me-26), 1.28 (3H, s, Me-27), 1.31 (3H, s, Me-28), 1.04 (3H, s, Me-29), 1.04 (3H, s, Me-30); fragmento del azúcar d 4.3 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1'), 4.34 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1''). RMN C¹³ (75.5 MHz, C₅D₅N) fragmento aglicona d 32.9 (t, C-1), 30.5 (t, C-2), 89.8 (d, C-3), 43.1 (s, C-4), 53.2 (d, C-5), 80.0 (d, C-6), 35.1 (t, C-7), 46.6 (d, C-8), 22.1 (s, C-9), 29.9 (s, C-10), 27.0 (t, C-11), 34.1 (t, C-12), 45.9 (s, C-13), 47.0 (s, C-14), 46.1 (t, C-15), 74.5 (d, C-16), 58.9 (d, C-17), 21.4 (c, C-18), 29.6 (t, C-19),

88.3 (s, C-20), 28.6 (X2) (cada c, C-21 y C-28), 35.5 (t, C-22), 26.8 (t, C-23), 82.4 (d, C-24), 72.4 (s, C-25), 26.8 (c, C-26), 27.8 (c, C-27), 16.7 (c, C-29), 20.3 (c, C-30); fragmento del azúcar d 107.5 (d, C-1'), 75.6 (d, C-2'), 78.0 (d, C-3'), 71.3 (d, C-4'), 66.7 (t, C-5'), 105.0 (d, C-1''), 75.5 (d, C-2''), 78.6 (d, C-3''), 71.7 (d, C-4''), 77.8 (d, C-5''), 62.9 (t, C-6''). Estos resultados concuerdan con los datos reportados por Kitagawa *et al.*, 1983 y Calis *et al.*, 1997, pero los datos espectroscópicos completos para el Astragalósido IV se proporcionan por vez primera.

6.4. Animales

Los experimentos se realizaron con ratas macho Wistar de 55 – 60 días de edad, con un peso entre 180-220 g., obtenidas del Centro UNAM-Harlan (Harlan México, S.A. de C.V.). Los procedimientos donde fueron involucrados animales se llevaron a cabo conforme a la Norma Oficial Mexicana sobre el Cuidado y Manejo de Animales (NOM-062-ZOO-1999). A menos que se especificara otra cosa, los animales fueron colocados en cajas individuales evitando cualquier contacto con el aserrín, privándose de alimento 24 h. antes del experimento, pero con libre acceso al agua. Todos los experimentos fueron llevados a cabo utilizando al menos 6 animales por grupo.

6.5. Fármacos y dosificación

Los extractos, fracciones y compuestos puros fueron suspendidos en Tween 80 al 0.5 % momentos antes de su administración en cada experimento. La carbenoxolona (95 % de pureza, Sigma-Aldrich Co.) utilizada como fármaco gastroprotector modelo (Wan y Gottfried, 1985), la indometacina, el éster metílico de N^G-nitro-L-arginina (L-NAME, 98

% de pureza), la N-etilmaleimida (NEM, 98 % de pureza) se adquirieron de Sigma Aldrich Corporation. El grupo control recibió el vehículo (0.5% Tween 80) en el mismo volumen (0.5 mL/100g) y por la misma vía de administración.

6.6. Lesiones gástricas inducidas por etanol absoluto

Las úlceras fueron inducidas de acuerdo al método descrito por Robert, 1979 a través de la administración intragástrica de etanol absoluto. El Astragalósido IV (3 – 30 mg/kg) y la carbenoxolona (3 – 30 mg/kg) se administraron a los diferentes grupos de animales 30 minutos antes de la administración del etanol (1 mL/rata), 2 horas después de la administración del agente necrosante, los animales se sacrificaron por una sobredosis de éter etílico. De forma inmediata se realizó la disección del estómago y duodeno, llenándose con 10 mL de formaldehído al 2 %, posteriormente se colocaron en un recipiente con formaldehído al 2 % por espacio de 15 minutos, para lograr la fijación tanto de la capa interna como de la capa externa del estómago. El duodeno fue abierto a lo largo de su lado anti-mesentérico y el estómago a lo largo de su curvatura mayor. El área dañada (mm²) fue medida con la ayuda de un microscopio estereoscópico (x 10) provisto de un micrómetro ocular (Diagrama 1). Se calculó la suma del área de todas las lesiones en el corpus de cada animal y fue utilizado como el índice de úlcera. El % de gastroprotección se calculó de acuerdo a la relación: % de gastroprotección = (UIC – UIT) X 100/UIC, donde UIC es el índice de úlcera control y UIT es el índice de úlcera de los animales tratados (Navarrete *et al.*, 1998).

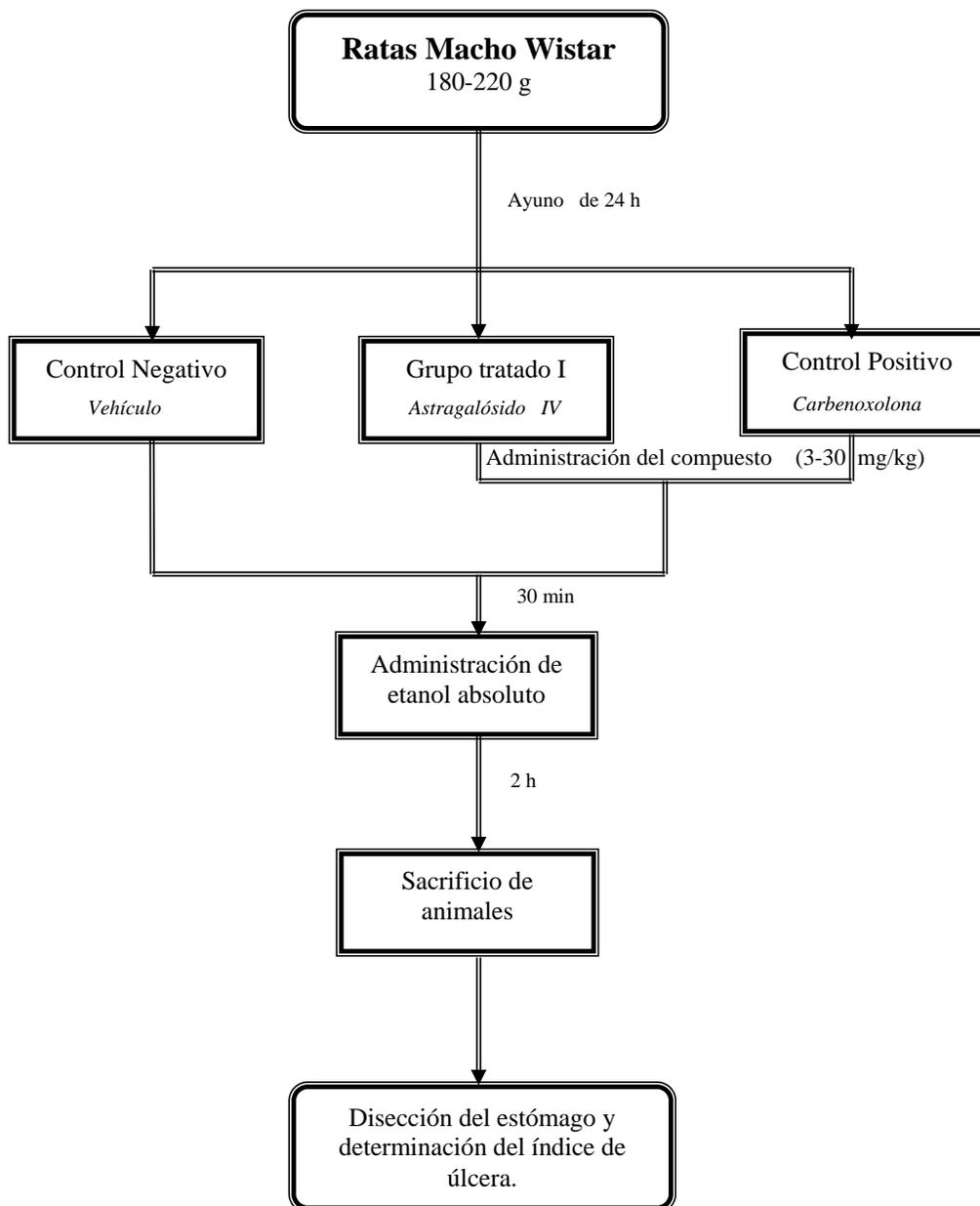


Diagrama 1. Evaluación de la actividad gastroprotectora de Astragalósido IV o carbenoxolona.

6.7. Lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas pretratadas con indometacina

Para determinar la participación de las prostaglandinas endógenas en la gastroprotección del Astragalósido IV y la carbenoxolona se administró indometacina por vía subcutánea (s. c.) a una dosis de 10 mg/kg, disuelta en una solución de cloruro de sodio al 0.9 % conteniendo 5 % de bicarbonato de sodio (5 mM, Wan y Gottfried, 1985), 75 minutos después se administraron por vía intragástrica el Astragalósido IV y la carbenoxolona al grupo correspondiente, ambos a la misma dosis (30 mg/kg) suspendidos en agua con trazas de Tween 80. Treinta minutos más tarde se administró el etanol absoluto (1 mL/rata, p.o.), 2 horas después los animales se sacrificaron y se determinó el índice de úlcera (Navarrete *et al.*, 1998). En este experimento se incluyeron dos grupos control. A un grupo control se le administró únicamente los vehículos más etanol y un segundo grupo control se le administró indometacina más etanol (Diagrama 2).

6.8. Lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas pretratadas por L-NAME

Para determinar la participación del óxido nítrico endógeno en la gastroprotección del Astragalósido IV y carbenoxolona, el L-NAME (70 mg/kg, disuelto en agua) se administró intraperitonealmente (i.p.) 30 min. antes de la administración por vía intragástrica a los compuestos de prueba a la dosis de 30 mg/kg (Matsuda *et al.*, 1999). El etanol absoluto (1 mL) se administró 30 minutos después y 2 horas más tarde los animales se sacrificaron y se determinó el índice de úlcera (Navarrete *et al.*, 1998). En este experimento se incluyeron dos grupos control. Un grupo control fue tratado con los vehículos, un segundo grupo control se trató con L-NAME (Diagrama 3).

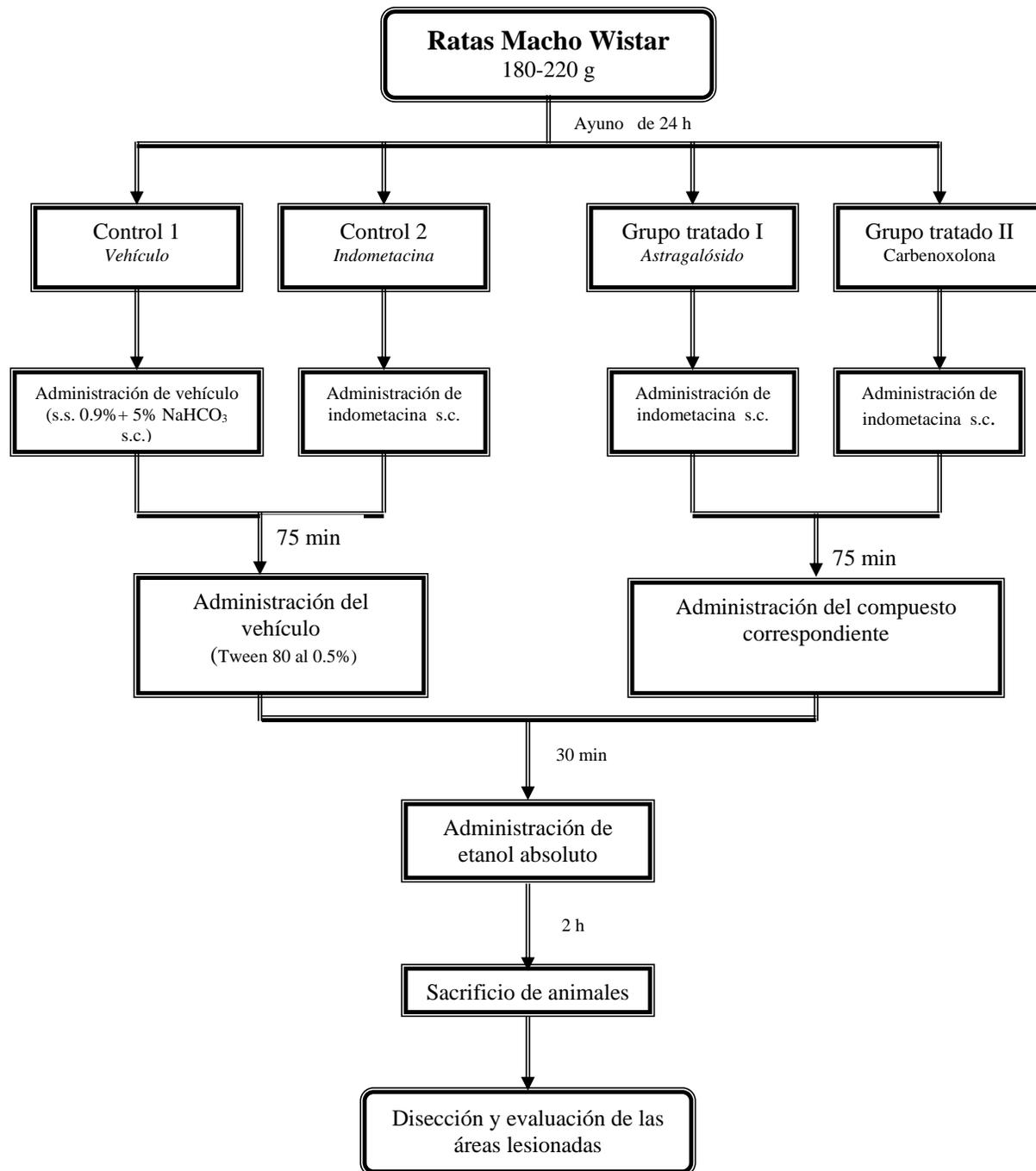


Diagrama 2. Evaluación del efecto de indometacina sobre la actividad gastroprotectora del Astragalósido IV o carbenoxolona.

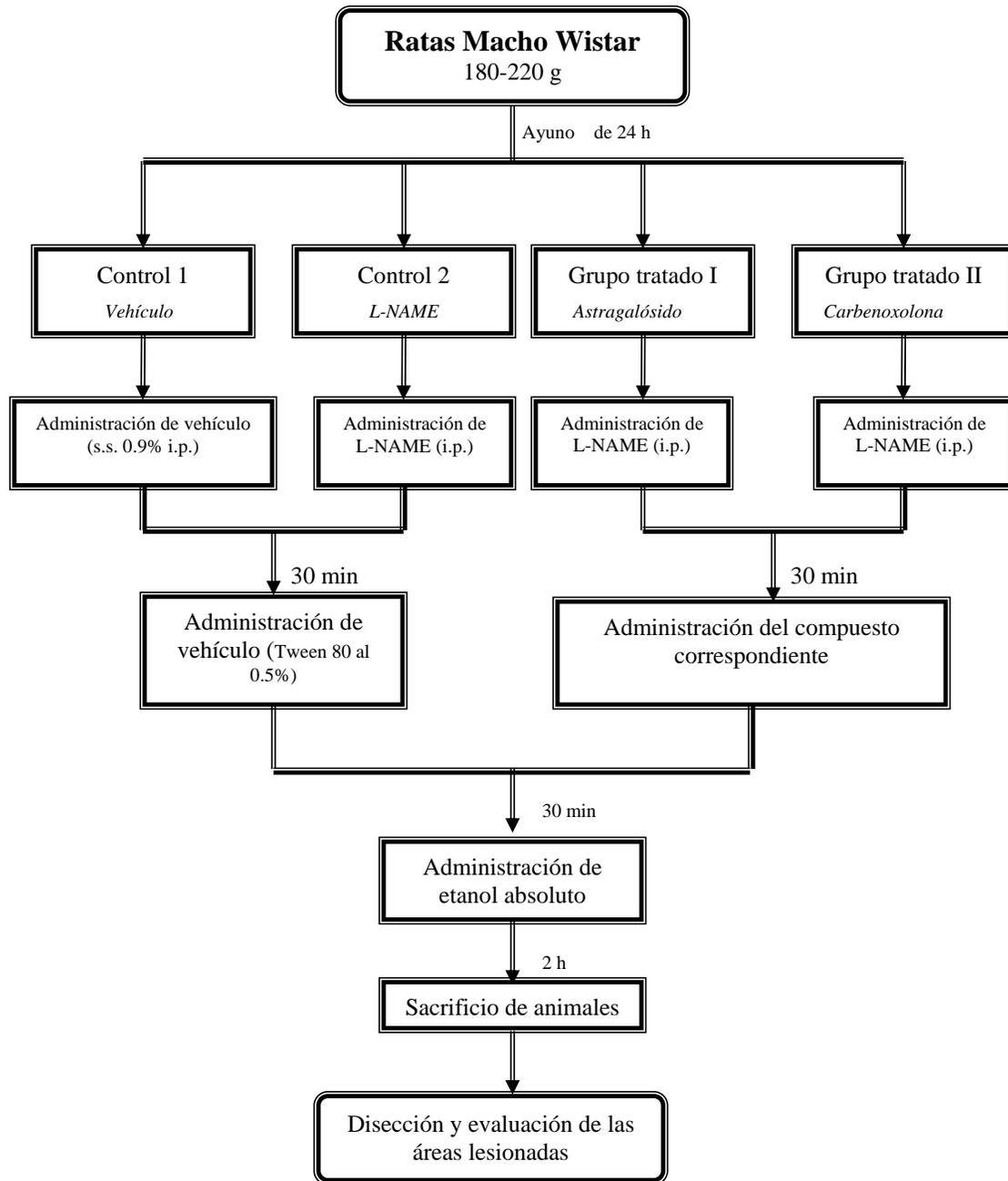


Diagrama 3. Evaluación del efecto de L-NAME sobre la actividad gastroprotectora del Astragalósido IV o carbenoxolona.

6.9. Lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas pretratadas con NEM

Para investigar la participación de los grupos sulfhidrilos en la gastroprotección del Astragalósido IV y carbenoxolona se administró NEM (10 mg/kg disuelta en solución salina al 0.9 % s. c.) 30 minutos antes de la administración intragástrica del Astragalósido IV (30 mg/kg) o de la carbenoxolona (30 mg/kg) (Matsuda *et al.*, 1999). Posteriormente se administró 1 mL de etanol absoluto a cada rata y se continuó con el procedimiento anterior hasta la obtención del índice úlcera. En este experimento se incluyeron dos grupos control. Un grupo control se le trato con los vehículos más etanol y un segundo grupo control fue tratado con NEM más etanol (Diagrama 4).

6.10. Estadística

Los resultados se presentan como la media \pm E.E.M. de seis ratas por grupo. Para determinar las diferencias significativas se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis (análisis de varianza de una vía para datos no paramétricos) seguida por la prueba de comparaciones múltiples de Dunn. Se consideraron diferencias significativas cuando el valor de P fue menor o igual a 0.05 (Arrieta *et al.*, 2003).

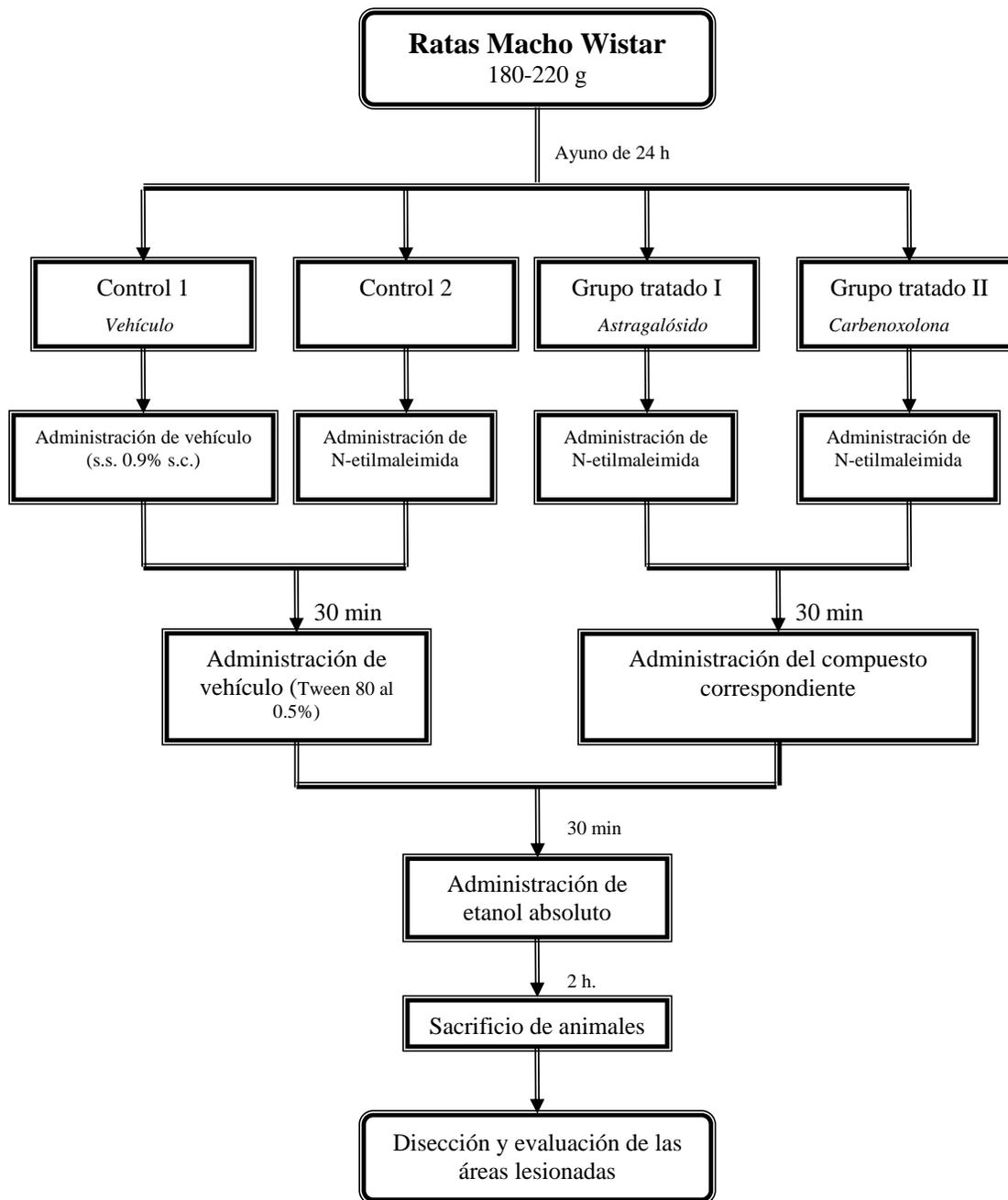


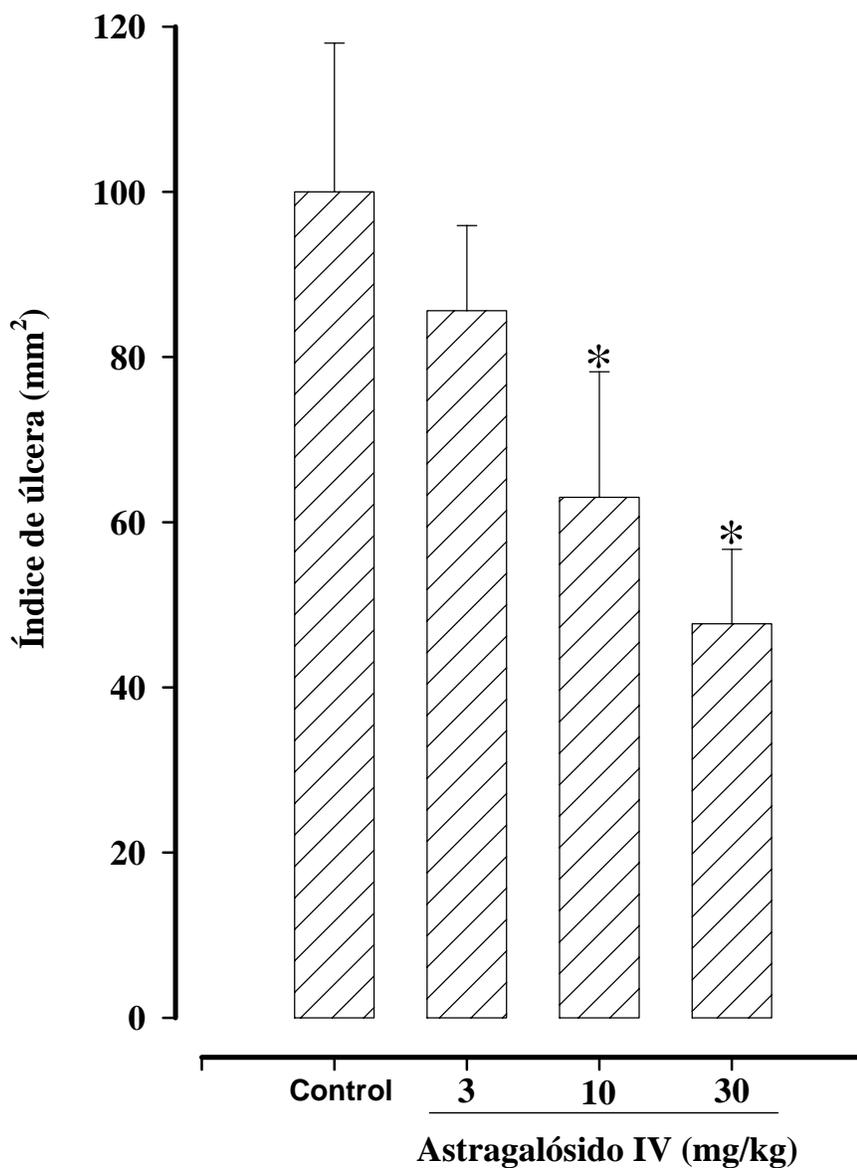
Diagrama 4. Evaluación del efecto de N-etilmaleimida sobre la actividad gastroprotectora del Astragalósido IV o carbenoxolona.

VII. RESULTADOS

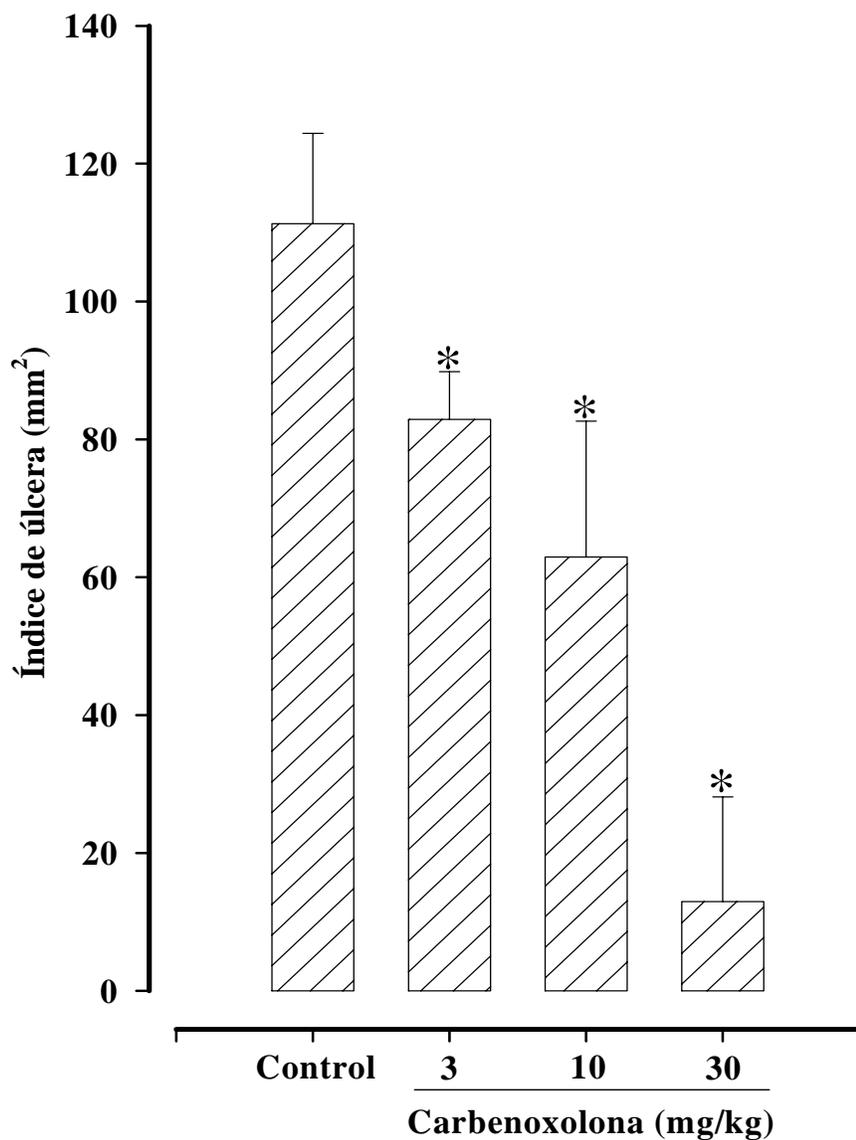
El Astragalósido IV (Figura 2) administrado intragástricamente (3-30 mg/kg) redujo las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas de manera dosis-dependiente, comparado con la respuesta obtenida en el grupo control (Gráfica 1). El máximo porcentaje de inhibición de las úlceras (%gastroprotección) obtenido con la dosis de 30 mg/kg de Astragalósido IV fue de $52.3 \pm 9\%$.

Asimismo, la carbenoxolona (3-30 mg/kg) administrada a los animales intragástricamente, produjo inhibición de las lesiones gástricas de manera dosis-dependiente (Gráfica 2). El máximo porcentaje de gastroprotección obtenido con la dosis más alta de carbenoxolona (30 mg/kg) fue $88.4 \pm 13.6\%$, demostrando con ello que la carbenoxolona es más potente que el Astragalósido IV.

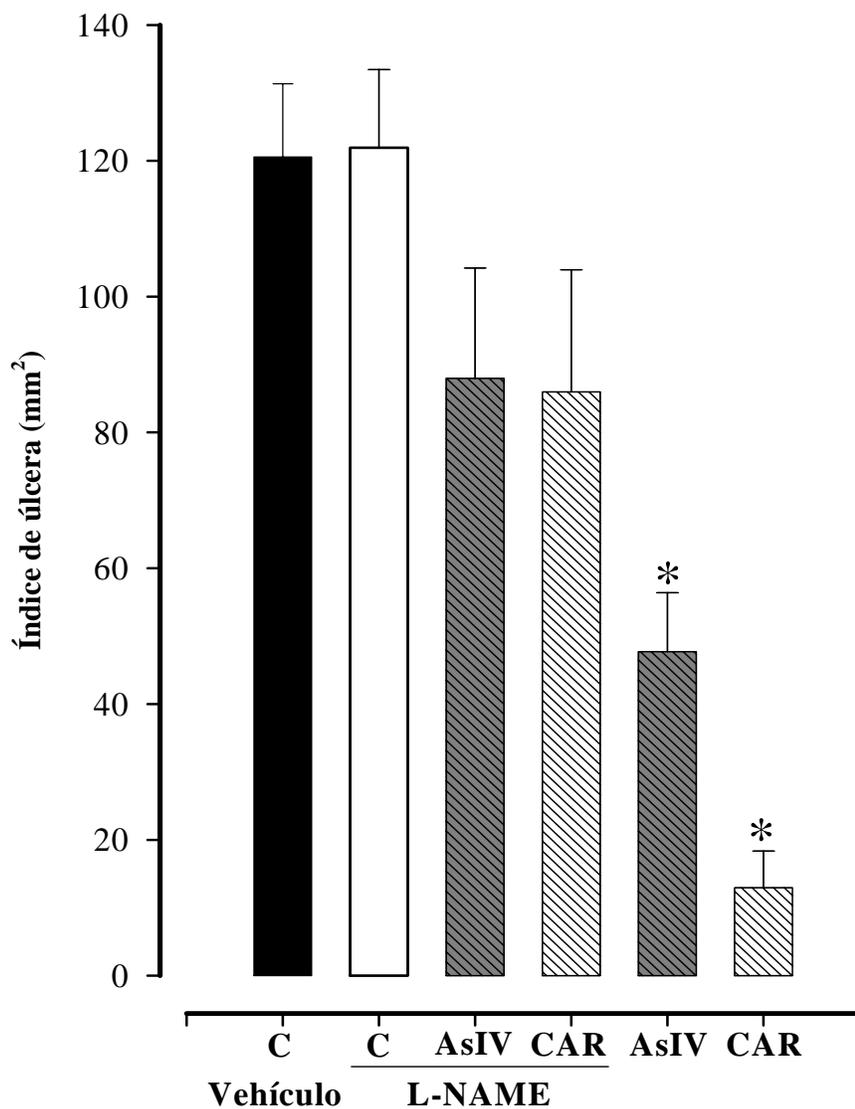
El índice de úlcera de las ratas tratadas con 70 mg/kg de L-NAME ($121.94 \pm \text{mm}^2$, Gráfica 3), 10 mg/kg de indometacina ($100.96 \pm 11.52 \text{ mm}^2$, Gráfica 4) y 10 mg/kg de NEM (111.5 mm^2 , Gráfica 5) no presentaron una diferencia significativa ($P > 0.05$) comparadas con sus respectivos controles tratados solamente con solución salina ($120.57 \pm 10.79 \text{ mm}^2$, $132.17 \pm 11.4 \text{ mm}^2$ y $120.57 \pm \text{mm}^2$).



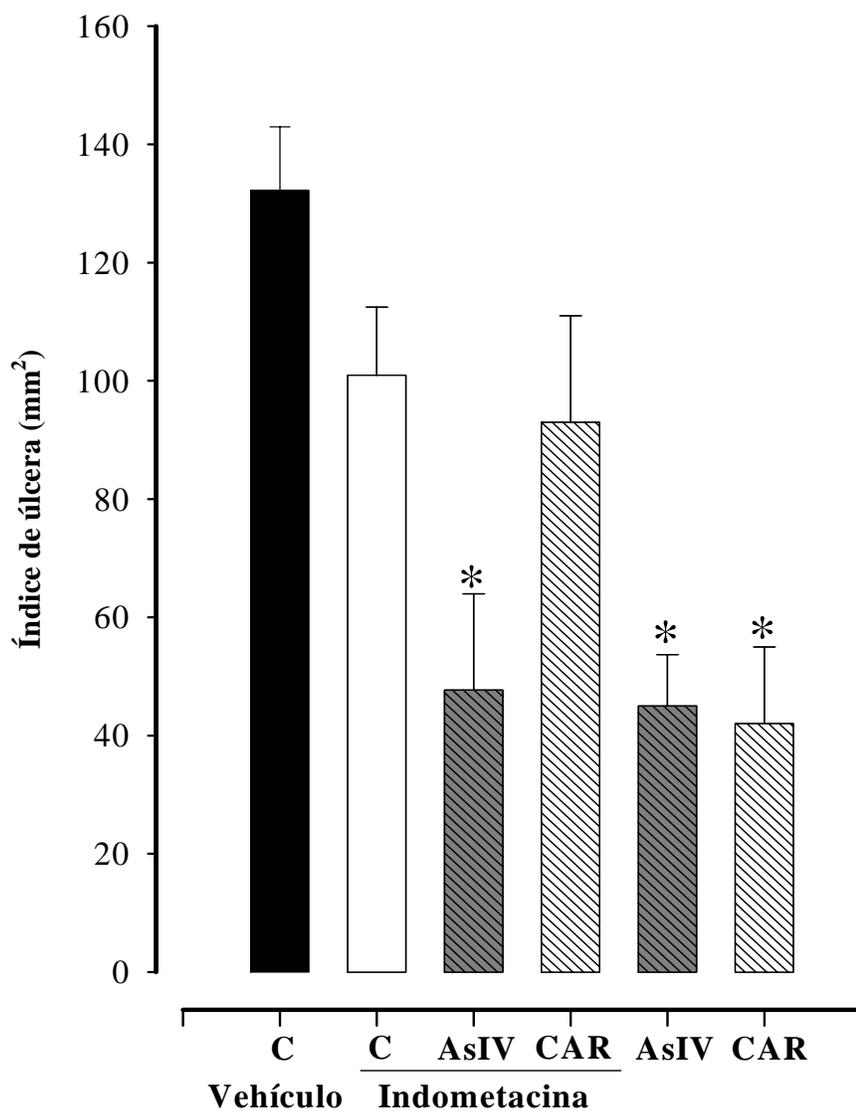
Gráfica 1. Efecto de distintas dosis de Astragalósido IV (3-30 mg/kg) administrado intragástricamente sobre lesiones gástricas inducidas en ratas por la administración intragástrica de etanol absoluto (1 mL/rata). Cada barra representa el promedio \pm E.E.M., n=6. * P<0.05 con respecto al control. Prueba de comparaciones múltiples de Dunn después de la prueba de Kruskal-Wallis.



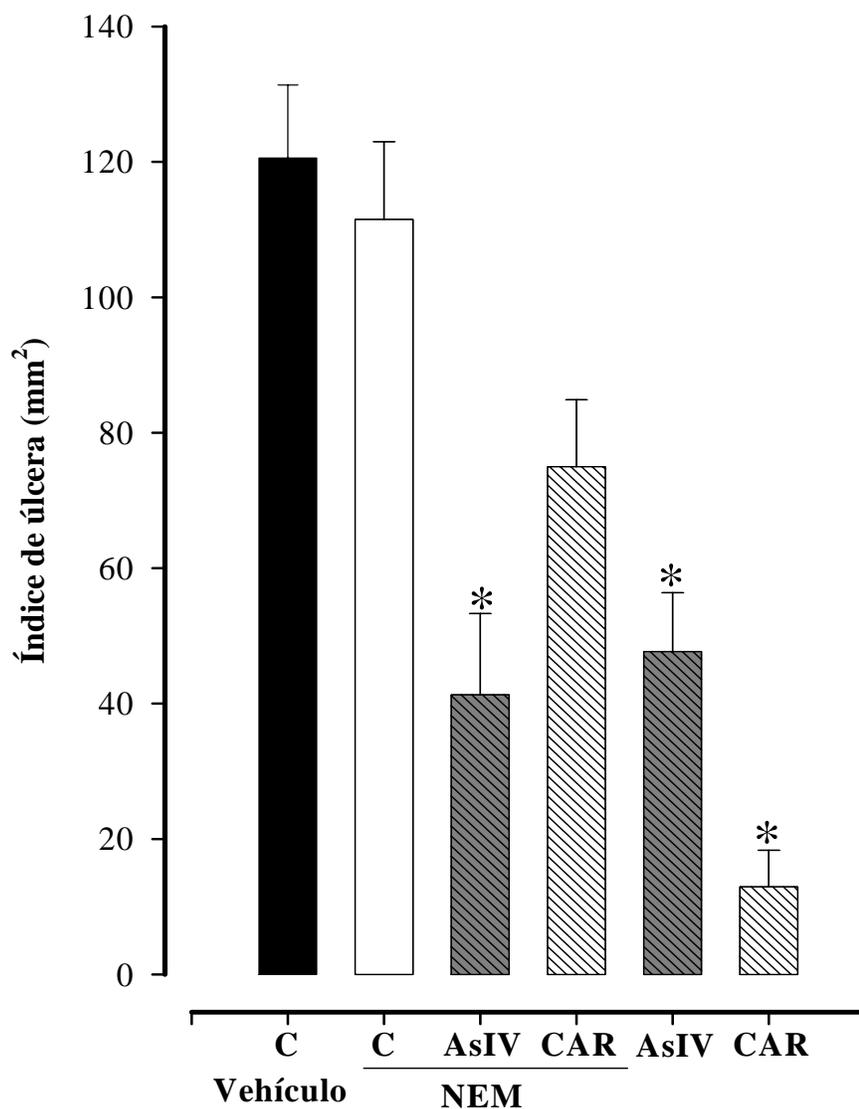
Gráfica 2. Efecto de distintas dosis de carbenoxolona (3-30 mg/kg) administrado intragástricamente sobre lesiones gástricas inducidas en ratas por la administración intragástrica de etanol absoluto (1 mL/rata). Cada barra representa el promedio \pm E.E.M., n=6. * P<0.05 con respecto al control. Prueba de comparaciones múltiples de Dunn después de la prueba de Kruskal-Wallis.



Gráfica 3. Efecto de la administración intragástrica de Astragalósido IV (**AsIV**, 30 mg/kg) o carbenoxolona (**CAR**, 30 mg/kg) sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol absoluto en ratas pretratadas con **L-NAME** (70 mg/kg, i. p.) antes de la evaluación del compuesto y del fármaco. Cada barra representa el promedio \pm E.E.M., n = 6. * P < 0.05 con respecto al control. Prueba de comparaciones múltiples de Dunn después de la prueba de Kruskal-Wallis. No se observó diferencia significativa entre el control de vehículos y el control pretratado con L-NAME.



Gráfica 4. Efecto de la administración intragástrica de Astragalósido IV (**AsIV**, 30 mg/kg) y carbenoxolona (**CAR**, 30 mg/kg) sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol absoluto en ratas pretratadas con **indometacina** (10 mg/kg, s. c.) antes de la evaluación del compuesto. Cada barra representa el promedio \pm E.E.M., n = 6. * P < 0.05 con respecto al control. Prueba de comparaciones múltiples de Dunn después de la prueba de Kruskal-Wallis. No se observó diferencia significativa entre el control de vehículos y el control pretratado con el inhibidor.



Gráfica 5. Efecto de la administración intragástrica de Astragalósido IV (AsIV, 30 mg/kg) y carbenoxolona (CAR, 30 mg/kg) sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol absoluto en ratas pretratadas con NEM (10 mg/kg, s. c.) antes de la evaluación del compuesto. Cada barra representa el promedio \pm E.E.M., n = 6. * P < 0.05 con respecto al control. Prueba de comparaciones múltiples de Dunn después de la prueba de Kruskal-Wallis. No se observó diferencia significativa entre el control de vehículos y el control pretratado con el inhibidor.

Está perfectamente demostrado que los fármacos empleados (L-NAME, indometacina y NEM) a las dosis utilizadas inhiben a la sintasa de NO, la síntesis de prostaglandinas y bloquean los grupos sulfhidrilos, respectivamente pero no causan lesiones gástricas (Matsuda *et al.*, 1999; Arrieta *et al.*, 2003).

El pretratamiento con L-NAME (70 mg/kg, s. c.) atenuó el efecto gastroprotector tanto del Astragalósido IV como el de la carbenoxolona (30 mg/kg) (Gráfica 3). El índice de úlcera obtenido de las ratas tratadas con Astragalósido IV ($87.95 \pm 16.25 \text{ mm}^2$) y carbenoxolona ($85.9 \pm 18.0 \text{ mm}^2$) no presentó una diferencia significativa ($P > 0.05$) cuando se comparó con los controles pretratados con L-NAME (121.94 mm^2), mientras que los valores para Astragalósido IV y carbenoxolona en ratas pretratadas con L-NAME fueron significativamente ($P < 0.05$) mas grandes que los valores obtenidos para los mismos compuestos en ratas no tratadas con L-NAME ($47.7 \pm 8.69 \text{ mm}^2$ y $12.94 \pm 5.40 \text{ mm}^2$, respectivamente) (Gráfica 3)

El Astragalósido IV (30 mg/kg), administrado intragástricamente, inhibió las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas pretratadas con indometacina (10 mg/kg). El índice de úlcera obtenido de ratas tratadas con Astragalósido IV fue de $47.6 \pm 16.3 \text{ mm}^2$. Este valor fue significativamente diferente ($p < 0.05$) cuando se comparó con los controles pretratados con indometacina ($100.96 \pm 11.52 \text{ mm}^2$), mientras que el índice de úlcera obtenido a la dosis de 30 mg/kg de carbenoxolona ($93.06 \pm 17.9 \text{ mm}^2$) no fue significativamente diferente ($P > 0.05$) al valor obtenido con el grupo control pretratado con indometacina (Gráfica 4). Para la carbenoxolona, existe una diferencia significativa ($P < 0.05$) entre las ratas tratadas ($93.06 \pm 17.9 \text{ mm}^2$) y las no tratadas ($42.0 \pm 17.9 \text{ mm}^2$)

con indometacina, pero no para Astragalósido IV ($47.6 \pm 16.3 \text{ mm}^2$ contra $45.0 \pm 8.6 \text{ mm}^2$, respectivamente) (Gráfica 4).

La administración intragástrica de 30 mg/kg de Astragalósido IV en las ratas pretratadas con NEM (10 mg/kg) produjo una reducción en las lesiones gástricas producidas por etanol. El índice de úlcera obtenido después de la administración de Astragalósido IV fue $41.3 \pm 11.9 \text{ mm}^2$, que fue significativamente diferente ($p < 0.05$) al valor de $115.5 \pm 11.5 \text{ mm}^2$ obtenido con el control pretratado con NEM (Gráfica 5), mientras que el efecto gastroprotector de 30 mg/kg de carbenoxolona ($75 \pm 9.9 \text{ mm}^2$) no fue significativamente diferente ($P > 0.05$) respecto al control (Gráfica 5).

VIII. DISCUSIÓN

De acuerdo a la hipótesis planteada, el Astragalósido IV el cual posee un hidroxilo derivado con β -D-xilopiranosil en la posición C-3 de su estructura, debería presentar actividad gastroprotectora, como fue observado. Este efecto gastroprotector fue de manera dosis-dependiente. Por lo tanto, el Astragalósido IV es un triterpenoide más con un hidroxilo derivado en posición C-3 y con actividad antiulcerosa.

Varias plantas que contienen cantidades altas de saponinas han presentado actividad antiulcerosa en distintos modelos experimentales de úlcera (Borelli e Izzo 2000). El ácido glizirrízico, la escina (mezcla de saponinas) y la mormordina Ic, son algunos ejemplos de saponinas con actividad gastroprotectora (Marhuenda *et al.*, 1993; Matsuda *et al.*, 1999). La actividad gastroprotectora de estas saponinas no es debido a la inhibición de la secreción de ácido, sino probablemente debida a la activación de factores protectores de la mucosa gástrica (Borrelli e Izzo 2000).

Es bien sabido que el etanol produce daño gástrico entre 1 y 3 minutos después de su aplicación en el intestino y estómago. Este daño puede prolongarse hasta por más de 2 horas, causando hiperemias focales y hemorrágicas (Chandranath *et al.*, 2002). Además la administración intragástrica de etanol incrementa la permeabilidad y el daño vascular en los capilares que se encuentran cerca de la superficie luminal y no en la capa profunda del músculo de la mucosa, lo cual indica el papel de la alteración del flujo sanguíneo en la generación de lesiones gástricas inducidas por etanol. (Chandranath *et al.*, 2002). Se sabe muy bien que el óxido nítrico y grupos donadores de óxido nítrico reducen significativamente la severidad del daño en la mucosa gástrica inducido por la aplicación tópica de etanol. (Elliot y Wallace 1998). El óxido nítrico interactivamente con los prostanooides y neuropéptidos sensoriales, regulan la integridad de la mucosa gástrica en ratas (Whittle *et al.*, 1990). El óxido nítrico participa en los mecanismos de defensa de la mucosa gástricos a través de la regulación del flujo sanguíneo, la secreción ácida y alcalina, así como también la secreción de moco gástrico. (Whittle y Lopez-Belmonte, 1993). La administración previa de L-NAME, un inhibidor de la sintasa del óxido nítrico, redujo la actividad gastroprotectora del Astragalósido IV, sugiriendo que el óxido nítrico participa en la gastroprotección de esta saponina.

El Astragalósido IV comparte varias actividades con el óxido nítrico, tales como la inhibición de la adhesión de leucocitos a las células endoteliales (Zhang *et al.*, 2003), como potente atrapador de radicales libres capaz de reducir tanto los radicales superóxido como de radicales hidroxilo (Ma y Yang 1999) e inhibición de la producción y liberación de mediadores inflamatorios como interleucina-1 y factor de necrosis tumoral (TNF α)

(Elliot y Wallace 1998; Lou *et al.*, 2004). Se ha sugerido que el óxido nítrico actúa como un antioxidante en la disfunción de la mucosa asociada con reperfusión isquémica, ya sea inducida por etanol, indometacina u otras condiciones inflamatorias del tracto gastrointestinal. (Denizbasi *et al.*, 2000).

Recientemente, se ha descrito la actividad protectora del Astragalósido IV contra el daño isquémico cerebral (Lou *et al.*, 2004). Los resultados obtenidos en este trabajo proporcionan la primera evidencia experimental que relaciona la actividad del Astragalósido IV con el óxido nítrico. Es posible que otras actividades descritas para el Astragalósido IV se lleven a cabo también a través de la participación del óxido nítrico.

Como se demostró en este trabajo, la inhibición de la síntesis de óxido nítrico a través del L-NAME revierte la actividad gastroprotectora del Astragalósido IV, sugiriendo que la actividad antiulcerosa de este glicósido es a través de la participación de óxido nítrico. El papel del óxido nítrico en la gastroprotección ha sido aceptado ampliamente (Elliot y Wallace 1998; Cui *et al.*, 2002). Se ha demostrado que las lesiones gástricas inducidas por la administración de etanol absoluto se reducen por un incremento en los niveles de óxido nítrico por la L-arginina (un sustrato para la sintasa del óxido nítrico) pero no por la D-arginina (Brzozowski *et al.*, 1997). Se ha descrito que el mecanismo mediante el cual la L-arginina protege a la mucosa gástrica se debe al incremento significativo en el flujo sanguíneo de la mucosa gástrica (GMBF) y a la angiogénesis sin la reducción de la secreción de moco y bicarbonato. En contraste, el tratamiento con N^G-nitro-L-arginina (L-NNA, un inhibidor de la sintasa de óxido nítrico) revierte los efectos de L-arginina (Brzozowski *et al.*, 1997). Los efectos opuestos entre L-arginina y L-NAME también han

sido observados en otros modelos experimentales de úlcera. (Elliot y Wallace 1998; Cui *et al.*, 2002).

Las prostaglandinas y grupos sulfhidrilos parecen tener poca participación en el mecanismo gastroprotector del Astragalósido IV, debido a que la gastroprotección de este compuesto no se vio afectado por el pretratamiento con indometacina, un inhibidor de la ciclooxigenasa, o con N-etilmaleimida (NEM), un bloqueador de grupos sulfhidrilos (Wan y Gottfried 1985; Szabo *et al.*, 1981). El óxido nítrico aparece como el factor gastroprotector involucrado en mayor proporción en el mecanismo de gastroprotección del Astragalósido IV. Sin embargo, otros mecanismos protectores que involucran la activación de neuronas aferentes sensibles a capsaicina, no exploradas en el presente trabajo, las cuales pueden ser estimuladas con otros triterpenoides, como se ha demostrado en otros trabajos (Oliveira *et al.*, 2004; Arrieta *et al.*, 2003; Matsuda *et al.*, 1999).

Los resultados obtenidos en este trabajo para la carbenoxolona concuerdan con los reportados previamente (Wan y Gottfried 1985; Arrieta *et al.*, 2003). Como es bien sabido, las prostaglandinas, y parcialmente el óxido nítrico y los grupos sulfhidrilos, están intensamente involucrados en el mecanismo de acción gastroprotector de la carbenoxolona (Arrieta *et al.*, 2003).

IX. CONCLUSIÓN

1. En el presente trabajo se demostró la actividad gastroprotectora del Astragalósido IV aislado de *Astragalus zahlbruckneri*.
2. De los factores gastroprotectores evaluados el óxido nítrico endógeno participa de manera importante en el mecanismo de acción gastroprotector del Astragalósido IV sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol.
3. Los resultados obtenidos en este trabajo proporcionan la primera evidencia experimental que relaciona la actividad del Astragalósido IV con el óxido nítrico.
4. El Astragalósido IV un glucósido triterpenico de tipo cicloartano proporciona un soporte adicional a la propuesta de que los triterpenos con hidroxilos libres o derivados en la posición C-3 tienen actividad gastroprotectora.

APÉNDICE

Gastroprotective effect of Astragaloside IV: role of prostaglandins, sulfhydryls and nitric oxide

Andrés Navarrete, Jesús Arrieta, Liliana Terrones, Hassan Abou-Gazar and Ihsan Calis

Abstract

This investigation evaluated the gastroprotective activity of Astragaloside IV, a cycloartane-type triterpene glycoside isolated from *Astragalus zahibruckneri*. Gastric mucosal damage was induced in rats by intragastric ethanol (1 mL/rat). Rats treated orally with Astragaloside IV suspended in Tween 80 at 3, 10 and 30 mg kg⁻¹, showed 15, 37 and 52% gastroprotection, respectively. The gastroprotection observed at 30 mg kg⁻¹ for this compound was attenuated in rats pretreated with N^ω-nitro-L-arginine methyl ester (70 mg kg⁻¹, i.p), a nitric oxide (NO)-synthase inhibitor, suggesting that the gastroprotective mechanism of this glycoside involves, at least in part, the participation of NO. The gastroprotective effect of Astragaloside IV was not affected by the inhibition of prostaglandin synthesis with indometacin (10 mg kg⁻¹, s.c.) nor by the block of endogenous sulfhydryls with N-ethylmaleimide (NEM, 10 mg kg⁻¹, s.c.). Carbenoxolone was used as a gastroprotective model drug and showed a dose-dependent gastroprotective effect (25, 43 and 88% of gastroprotection, at 3, 10 and 30 mg kg⁻¹, respectively). The partial participation of prostaglandins, sulfhydryls and NO was observed in the gastroprotective mechanism of carbenoxolone.

Facultad de Química,
Departamento de Farmacia,
Universidad Nacional Autónoma
de México, Ciudad Universitaria
Coyoacan 04510, México D.F.,
México

Andrés Navarrete, Jesús Arrieta,
Liliana Terrones

Al-Azhar University-Gaza, Gaza
Strip, Palestinian Authority, Israel

Hassan Abou-Gazar

Department of Pharmacognosy,
Faculty of Pharmacy, Hacettepe
University, Sıhhiye, TR-06100,
Turkey

Ihsan Calis

Correspondence: A. Navarrete,
Facultad de Química,
Departamento de Farmacia,
Universidad Nacional Autónoma
de México, Ciudad Universitaria,
Coyoacan 04510, México D.F.,
México. E-mail:
anavarrt@servidor.unam.mx

Funding: This study was partially
financed by a grant from
Dirección General de Asuntos del
Personal Académico, UNAM
(Proyecto DGAPA, IN 203902) and
Consejo Nacional de Ciencia y
Tecnología (CONACYT 41231).

Introduction

Ulceration occurs when there is a disturbance of the normal equilibrium caused by either enhanced aggression or diminished mucosal resistance. The defence mechanisms of the gastrointestinal mucosa mainly consist of functional, humoral and neuronal factors. Mucus alkaline secretion, mucosal microcirculation and motility act as functional factors, while prostaglandins and nitric oxide (NO) act as humoral factors, and capsaicin-sensitive sensory neurons (CPSN) act as neuronal factors (Calatayud et al 2001). Several triterpenoids, including carbenoxolone, and sterols have been shown to possess anti-ulcer activity (Lewis & Hanson 1991; Borrelli & Izzo 2000; Oliveira et al 2004). We have proposed previously that a hydroxyl group (free or derivative) at position C-3 is necessary for sterols and triterpenoids to have anti-ulcer activity (Navarrete et al 2002; Arrieta et al 2003). This hypothesis is based on the observation that triterpenoids or sterols with this structural feature have shown anti-ulcer activity (Borrelli & Izzo 2000). An additional characteristic for anti-ulcer triterpenoids is that they also have anti-inflammatory activity (Rajic et al 2001). In addition, several plants containing high amounts of saponins have been shown to possess anti-ulcer activity (Borrelli & Izzo 2000). In this sense, and to give additional support to our hypothesis, we were interested in evaluating the gastroprotective effect of Astragaloside IV, a cycloartane-type triterpene glycoside (3-O-β-D-xylopyranosyl-6-O-β-D-glucopyranosylcycloastragenol, Figure 1), regarded as a characteristic and active constituent of *Astragalus* species (Fabaceae) (Gu et al 2004; Yesilada et al 2005). Astragaloside IV possesses those characteristics: it is a saponin with a hydroxyl derivative group at C-3 and it has anti-inflammatory activity (Zhang et al 2003). Astragaloside IV belongs to one group of pharmacologically active saponins described in *Astragalus* species (Rios & Waterman 1997). Antinociceptive (Yang et al 2001), anti-aging (Lei et al 2003) and immunostimulant (Yesilada et al 2005) effects, cytotoxicity on several human cancer lines (Verotta et al 2001), a protective effect against ischaemic brain and myocardial injury (Zhou et al 2000; Luo et al 2004) and antimicrobial (Calis et al 1997) and

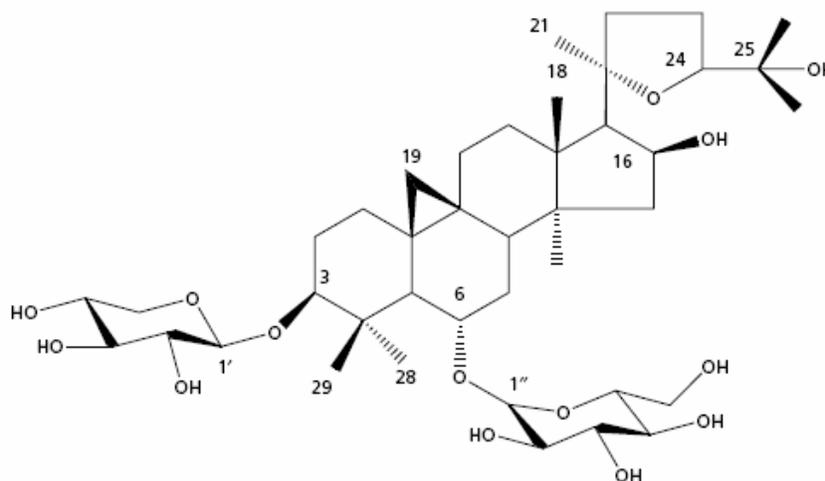


Figure 1 Structure of Astragaloside IV.

antioxidative (Ma & Yang 1999) effects have been described, in addition to in-vitro and in-vivo anti-inflammatory activity for Astragaloside IV (Zhang et al 2003).

This study was undertaken to investigate the gastroprotective effect of Astragaloside IV using as an experimental model the inhibition of ethanol-induced ulcers in rats. We also discuss the role of endogenous NO, sulfhydryls and prostaglandins in the gastroprotection of this glycoside.

Materials and Methods

Animals

All the experiments were performed with male Wistar rats, 55–60 day old, weighing 180–220 g, obtained from Centro UNAM-Harlan (Harlan México, S.A. de C.V.). Procedures involving rats and their care were conducted in conformity with the Mexican Official Norm for Animal Care and Handling (NOM-062-ZOO-1999) and in compliance with international rules on care and use of laboratory animals. Unless otherwise specified, the rats were placed in single cages with wire-net floors and deprived of food 24 h before experimentation but allowed free access to tap water throughout. All experiments were carried out using 6 rats per group.

Astragaloside IV

Astragaloside IV was isolated from roots of *Astragalus zahlbruckneri* (Abou-Gazar & Calis 2000; Calis et al 2001). The roots of *Astragalus zahlbruckneri* Hand.-Mazz (Leguminosae) were collected from Sivrice, 28 km southeast of Elazig, East Anatolia, Turkey, in June 1999. A voucher specimen was deposited in the Herbarium of the Pharmacognosy Department, Faculty of Pharmacy, Hacettepe University, Ankara Turkey (HUEF 99-047).

The air-dried powdered roots (450 g) were extracted with 80% aqueous ethanol (2 × 3 L) under reflux. The ethanol extracts were combined and evaporated to dryness in-vacuo to yield 54 g of crude extract (yield 12%). A sample of ethanol extract (40 g) was fractionated by open-column chromatography by silica gel (600 g) employing gradient CH₂Cl₂-MeOH-H₂O mixtures (90:10:1, 1500 mL; 80:20:2, 1000 mL; 70:30:3, 1000 mL; 60:40:4, 1700 mL; and 50:50:5, 1000 mL), yielding 12 fractions (fractions A–L: A, 500 mg; B, 500 mg; C, 733 mg; D, 1860 mg; E, 1640 mg; F, 737 mg; G, 1300 mg; H, 4730 mg; I, 4700 mg; K, 4700 mg; and L, 5800 mg). Fraction J gave colourless crystals from methanol, which afforded Astragaloside IV (4500 mg). IR (KBr) ν_{\max} 3400, 2930, 1040 cm⁻¹; FAB⁺ MS: m/z = 807 [M + Na]⁺; $[\alpha]_D^{20}$; +19.3 (c 0.4, MeOH); ¹H NMR (300 MHz, C₅D₅N): aglycon moiety δ 3.22 (1H, m, H-3), 1.63 (1H, d, J = 9.0 Hz, H-5), 4.67 (1H, ddd, J = 7.5, 7.5, 7.0 Hz, H-16), 2.38 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-17), 1.27 (3H, s, Me-18), 0.29 and 0.62 (each 1H, d, J_{AB} = 4.4 Hz, H-19a and H-19b, respectively), 1.23 (3H, s, Me-21), 3.80 (1H, dd, J = 8.0, 7.0 Hz, H-24), 1.15 (3H, s, Me-26), 1.28 (3H, s, Me-27), 1.31 (3H, s, Me-28), 1.04 (3H, s, Me-29), 1.04 (3H, s, Me-30); sugar moiety δ 4.30 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-1'), 4.34 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-1''). ¹³C NMR (75.5 MHz, C₅D₅N) aglycon moiety δ 32.9 (t, C-1), 30.5 (t, C-2), 89.8 (d, C-3), 43.1 (s, C-4), 53.2 (d, C-5), 80.0 (d, C-6), 35.1 (t, C-7), 46.6 (d, C-8), 22.1 (s, C-9), 29.9 (s, C-10), 27.0 (t, C-11), 34.1 (t, C-12), 45.9 (s, C-13), 47.0 (s, C-14), 46.1 (t, C-15), 74.5 (d, C-16), 58.9 (d, C-17), 21.4 (q, C-18), 29.6 (t, C-19), 88.3 (s, C-20), 28.6 (X₂) (each q, C-21 and C-28), 35.5 (t, C-22), 26.8 (t, C-23), 82.4 (d, C-24), 72.4 (s, C-25), 26.8 (q, C-26), 27.8 (q, C-27), 16.7 (q, C-29), 20.3 (q, C-30); sugar moiety δ 107.5 (d, C-1'), 75.6 (d, C-2'), 78.0 (d, C-3'), 71.3 (d, C-4'), 66.7 (t, C-5'), 105.0 (d, C-1''), 75.5 (d, C-2''), 78.6 (d, C-3''), 71.7 (d, C-4''), 77.8 (d, C-5''), 62.9 (t, C-6''). These data were in agreement with those previously reported (Kitagawa et al 1983; Calis et al 1997).

Drug and dosage

Carbenoxolone (Sigma-Aldrich Co.) was used as a model gastroprotective drug (Wan & Gottfried 1985). The drugs were prepared freshly each time and administered suspended in 0.5% Tween 80 by the intragastric route. Control rats received vehicle (0.5% Tween 80) in the same volume (0.5 mL/100 g) by the same route. *N*^G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), *N*-ethylmaleimide (NEM) and indometacin were purchased from Sigma Chemical Co (USA).

Acute gastric ulcers induced by absolute ethanol

Ulceration was induced according to the method described by Robert (1979), by intragastric instillation of absolute ethanol. Rats were divided into different groups of six each. Each group received either vehicle (1 mL kg⁻¹), Astragaloside IV (3–30 mg kg⁻¹) or carbenoxolone (3–30 mg kg⁻¹) by gastric gavage. Thirty minutes after drug administration, absolute ethanol was given orally to each rat at a dose of 1 mL/rat. Two hours after ethanol administration, the rats were killed by ether inhalation. The stomach and duodenum were dissected out, inflated with 10 mL of 2% formalin and placed in 2% formalin for 15 min to fix both the inner and outer layers. The duodenum was opened along its anti-mesenteric side and the stomach along the greater curvature. The damage area (mm²) was measured under a dissection microscope (×10) with an ocular micrometer. The sum of the area of all lesions in the corpus for each rat was calculated and served as the ulcer index. Gastroprotection (%) was calculated according to: % Gastroprotection = (UIC – UIT) × 100/UIT, where UIC is ulcer index in control and UIT is ulcer index in test rats (Navarrete et al 1998).

Ethanol-induced gastric mucosal lesions in indometacin-pretreated rats

To investigate the involvement of endogenous prostaglandins in the gastroprotective effects of Astragaloside IV and carbenoxolone, the rats were divided into groups according to the respective treatment. The control group received a subcutaneous injection of NaHCO₃ (5 mM) in saline solution and the others, an injection of indometacin (10 mg kg⁻¹, dissolved in NaHCO₃, 5 mM) by the same route (Matsuda et al 1999). After 75 min, all the groups received the respective treatment orally (saline solution, 30 mg kg⁻¹ of Astragaloside IV or 30 mg kg⁻¹ of carbenoxolone). Absolute ethanol was given to each rat 30 min after drug administration and the rats were killed 2 h later by ether inhalation. The stomachs were subsequently removed to measure the ulcer index, as described earlier.

Ethanol-induced gastric mucosal lesions in L-NAME-pretreated rats

To investigate the involvement of endogenous NO in the protective effects Astragaloside IV and carbenoxolone, L-NAME (70 mg kg⁻¹ dissolved in saline solution) was intraperitoneally injected 30 min before the administration

of either vehicle, Astragaloside IV (30 mg kg⁻¹) or carbenoxolone (30 mg kg⁻¹) by the oral route (Matsuda et al 1999). Absolute ethanol was given to each rat 30 min later and rats were killed 2 h after the administration of ethanol to measure the intensity of the gastric ulcers. Two control groups (L-NAME-treated and non-L-NAME-treated) were included in this experiment.

Ethanol-induced gastric mucosal lesions in NEM-pretreated rats

To investigate the involvement of endogenous sulfhydryls in the protective effects of Astragaloside IV and carbenoxolone, NEM (10 mg kg⁻¹, dissolved in saline solution) was subcutaneously injected 30 min before the administration of either vehicle, Astragaloside IV (30 mg kg⁻¹) or carbenoxolone (30 mg kg⁻¹) by the oral route (Matsuda et al 1999). Absolute ethanol was given to each rat 30 min later and rats were killed 2 h after the administration of ethanol to measure the intensity of the gastric ulcers. Two control groups (NEM-treated and non-NEM-treated) were included in this experiment.

Statistics

Data are presented as the mean ± s.e.m. from 6 rats per group. Statistically significant differences between the treatments were tested by Kruskal–Wallis test (non-parametric one-way analysis of variance) followed by Dunn's multiple comparison test. *P* < 0.05 was considered significant.

Results

Astragaloside IV (3–30 mg kg⁻¹) administered orally reduced the ethanol-induced gastric haemorrhagic lesions in a dose-dependent manner compared with responses obtained to control group (Figure 2A). The maximum percentage inhibition of ulcers (% gastroprotection) obtained with 30 mg kg⁻¹ Astragaloside IV following oral administration was 52.3 ± 9%.

Similarly, carbenoxolone (3–30 mg kg⁻¹), given to rats orally 30 min before ethanol treatment, produced a dose-dependent inhibition of haemorrhagic lesions (Figure 2B). The maximum % gastroprotection obtained for the highest dose of carbenoxolone (30 mg kg⁻¹) was 88.4 ± 13.6%, showing carbenoxolone to be more potent than Astragaloside IV.

The ulcer indexes of the rats treated with 70 mg kg⁻¹ of L-NAME (121.94 ± 11.4 mm², Figure 3A), 10 mg kg⁻¹ of indometacin (100.96 ± 11.52 mm², Figure 3B) and 10 mg kg⁻¹ of NEM (111.5 ± 11.50 mm², Figure 3C) were not significantly (*P* > 0.05) different compared with their respective controls treated only with saline solution (120.57 ± 10.79 mm², 132.17 ± 11.4 mm² and 120.57 ± 10.79 mm²). It is very well recognized that these doses inhibit NO synthase (NOS), inhibit prostaglandin synthesis and blockade the endogenous sulfhydryls, respectively, but do not cause ulcers (Matsuda et al 1999; Arrieta et al 2003).

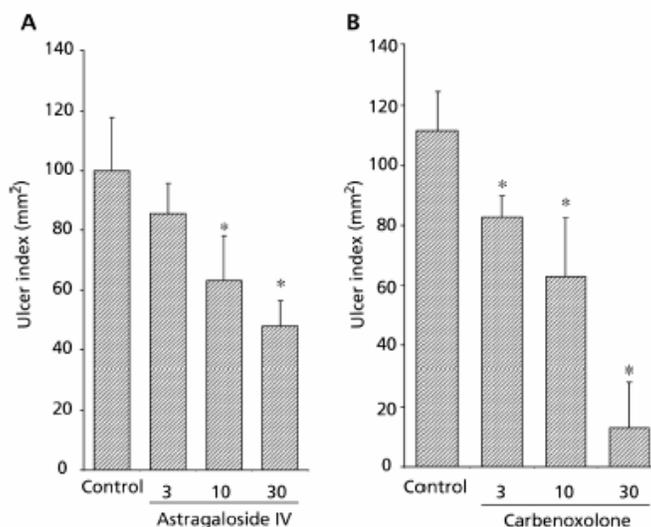


Figure 2 Effect of different doses of Astragaloside IV (3–30 mg kg⁻¹) (A) and carbenoxolone (3–30 mg kg⁻¹) (B) administered orally, on gastric haemorrhagic lesions induced in rats by absolute ethanol (1 mL/rat). Bars represent the mean ± s.e.m., n = 6. **P* < 0.05, vs respective control; Dunn's multiple comparison test after Kruskal–Wallis test.

Pretreatment with L-NAME (70 mg kg⁻¹, s.c.) attenuated the gastroprotective effect of both Astragaloside IV (30 mg kg⁻¹) and carbenoxolone (30 mg kg⁻¹) (Figure 3A). The ulcer index obtained in the rats treated with Astragaloside IV (87.95 ± 16.25 mm²) and carbenoxolone (85.9 ± 18.0 mm²) were not significantly (*P* > 0.05) different compared with the L-NAME-pretreated controls (121.94 ± 11.4 mm²), whereas the values for Astragaloside IV and carbenoxolone in L-NAME-pretreated rats were significantly (*P* < 0.05) higher than the ulcer index values

obtained for the same drugs in non-L-NAME-treated rats (47.7 ± 8.69 mm² and 12.94 ± 5.40 mm², respectively) (Figure 3A).

Astragaloside IV (30 mg kg⁻¹), administered orally, produced inhibition of ethanol-induced haemorrhagic lesions in indometacin (10 mg kg⁻¹)-pretreated rats. The ulcer index obtained for Astragaloside IV-treated rats was 47.6 ± 16.3 mm². This value was significantly (*P* < 0.05) different to that of the indometacin-pretreated controls (100.96 ± 11.52 mm²), whereas the value for 30 mg kg⁻¹

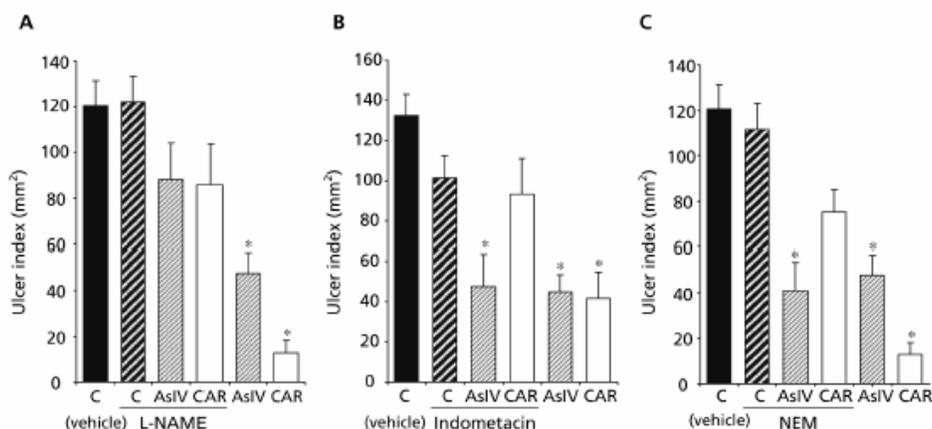


Figure 3 Effect of orally administered Astragaloside IV (AsIV, 30 mg kg⁻¹) and carbenoxolone (CAR, 30 mg kg⁻¹) on gastric haemorrhagic lesions induced by absolute ethanol (1 mL/rat) in rats pretreated with L-NAME (70 mg kg⁻¹, i.p.) (A), indometacin (10 mg kg⁻¹, s.c.) (B) or NEM (10 mg kg⁻¹, s.c.) (C) before the test drug. Bars represent the mean ± s.e.m., n = 6. **P* < 0.05, vs the respective control; Dunn's multiple comparison test after Kruskal–Wallis test. No differences were observed between vehicle-treated control and control pretreated with the inhibitor or blocker.

carbenoxolone ($93.06 \pm 17.9 \text{ mm}^2$) was not significantly different ($P > 0.05$) from the control value (Fig 3B). There was significant difference ($P < 0.05$) between indometacin-treated and non-indometacin-treated rats for carbenoxolone ($93.06 \pm 17.9 \text{ mm}^2$ vs $42.0 \pm 17.9 \text{ mm}^2$, respectively), but not for Astragaloside IV ($47.6 \pm 16.3 \text{ mm}^2$ vs $45.0 \pm 8.6 \text{ mm}^2$, respectively) (Figure 3B).

Oral administration of 30 mg kg^{-1} Astragaloside IV to NEM (10 mg kg^{-1})-pretreated rats produced a reduction in the ethanol-induced gastric haemorrhagic lesions. The ulcer index obtained following the administration of Astragaloside IV was $41.3 \pm 11.9 \text{ mm}^2$, which was significantly ($P < 0.05$) different to the NEM-pretreated control value of $111.5 \pm 11.5 \text{ mm}^2$ (Figure 3C), whereas the value for 30 mg kg^{-1} carbenoxolone ($75 \pm 9.9 \text{ mm}^2$) was not significantly different ($P > 0.05$) to the control value (Figure 3C).

Discussion

According our hypothesis, Astragaloside IV, with a hydroxyl derivate with β -D-xylopyranosyl at position C-3, should show anti-ulcer activity, as it was observed. This gastroprotective effect was dose dependent. Therefore, Astragaloside IV is one more triterpenoid with a hydroxyl derivate at C-3 and with anti-ulcer activity. Several plants containing high amounts of saponins have been shown to possess anti-ulcer activity in several experimental ulcer models (Borelli & Izzo 2000). Glycyrrhizic acid, aescine (a mixture of saponins) and momordin Ic are some examples of saponins with anti-ulcer activity (Marhuenda et al 1993; Matsuda et al 1999). The gastroprotective activity of those saponins are not due to inhibition of gastric acid secretion but probably due to activation of mucous membrane protective factors (Borrelli & Izzo 2000).

It is well known that ethanol produces gastric mucosal damage within 1–3 min of its instillation into the gut and lasts for more than 2 h by causing areas of focal hyperaemia and haemorrhage (Chandranath et al 2002). Moreover, intragastric administration of ethanol increases vascular permeability and vascular damage occurring in capillaries near the luminal surface and not in the deeper muscularis mucosa, which indicates a role for impaired blood flow in the genesis of ethanol-induced gastric lesions (Chandranath et al 2002). It is known that authentic NO or NO donors markedly reduce the severity of damage to the gastric mucosa induced by topical application of ethanol (Elliot & Wallace 1998). NO, interactively with prostanoids and sensory neuropeptides, regulates gastric mucosal integrity in rats (Whittle et al 1990). NO participates in the gastric defence mechanisms by regulating the gastric mucosal blood flow, acid and alkaline secretion and gastric mucus secretion (Whittle & Lopez-Belmonte 1993). The previous administration of L-NAME, an NO-synthase inhibitor, reduced the anti-ulcerogenic activity of Astragaloside IV, suggesting that NO participates in the gastroprotection of this saponin. Astragaloside IV shares several activities with NO, such as the inhibition of leucocyte adhesion to endothelial cells

(Zhang et al 2003), potent free radical scavenging capable of reducing both superoxide and hydroxyl radicals (Ma & Yang 1999) and inhibition of the production and release of the inflammatory mediators interleukin-1 and tumour necrosis factor (TNF α) (Elliot & Wallace 1998; Luo et al 2004). It has been suggested that NO acts as an antioxidant in mucosal dysfunction associated with ischaemia–reperfusion or induced by ethanol or indometacin, or in other inflammatory conditions of the gastrointestinal tract (Denizbasi et al 2000). Recently, protective activity against ischaemic brain injury has been described for Astragaloside IV (Luo et al 2004). The results obtained here provide the first experimental evidence that relates the activity of Astragaloside IV with NO. It may be possible that other activity described for Astragaloside IV occurs also through participation of NO.

As it was demonstrated here, the inhibition of NO synthesis by L-NAME reversed the gastroprotective activity of Astragaloside IV, suggesting that the anti-ulcer activity of this glycoside is through the participation of NO. The role of NO in gastroprotection has been widely accepted (Elliot & Wallace 1998; Cui et al 2002). An increase of NO levels by L-arginine (a substrate for NOS), but not D-arginine, has been shown to reduce gastric lesions induced by absolute ethanol (Brzozowski et al 1997). The mechanism underlying the L-arginine-induced gastric protection has been described as being due to a significant increase in gastric mucosal blood flow (GMBF) and angiogenesis, without reduced secretion of mucus and bicarbonates. In contrast, treatment with N^G -nitro-L-arginine (L-NNA, an inhibitor of NO synthase) reverses the effects of L-arginine (Brzozowski et al 1997). The opposing effects of L-arginine and L-NAME have also been observed in other ulcer models (Elliot & Wallace 1998; Cui et al 2002).

Prostaglandins and sulfhydryls seem to have little participation in the mechanism of gastroprotection of Astragaloside IV, because the gastroprotection of this compound was not affected by pretreatment with indometacin, a cyclooxygenase inhibitor, or NEM, a sulfhydryl blocker (Szabo et al 1981; Wan & Gottfried 1985). NO appeared to be the major gastroprotective factor associated with the mechanism of gastroprotection of Astragaloside IV. However, other protective mechanisms involving the activation of capsaicin-sensitive afferent neurons, not explored here, may be stimulated, as shown by Oliveira et al (2004) with other triterpenoids.

The results obtained here for carbenoxolone are in agreement with those previously reported (Wan & Gottfried 1985; Arrieta et al 2003). As it is known, prostaglandins and, partially, NO and sulfhydryls, are intensively involved in the gastroprotective mechanism of carbenoxolone (Arrieta et al 2003).

Conclusion

In this work the gastroprotective activity of Astragaloside IV was demonstrated. Endogenous NO plays an important role in the gastroprotective mechanism of Astragaloside IV on ethanol-induced gastric lesions.

These results give additional support to our proposal that triterpenoids with free or derivate hydroxyl at C-3 have anti-ulcer activity.

References

- Abou-Gazar, H., Calis, I. (2000) *Astragalus zahlbruckneri* den elde edile sikoartan tipi bilesikler. XIII. Bitkisel ilac hammaddeleri toplantisi. Marmara Universitesi Eczacilik Fakultesi, Bildiri Ozetleri, Istanbul, p. 56
- Arrieta, J., Benitez, J., Flores, E., Castillo, C., Navarrete, A. (2003) Purification of gastroprotective triterpenoids from the stem bark of *Amphipterygium adstringens*; role of prostaglandins, sulfhydryls, nitric oxide and capsaicin-sensitive neurons. *Planta Med.* **69**: 905-909
- Borrelli, F., Izzo, A. A. (2000) The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. *Phytother. Res.* **14**: 581-591
- Brzozowski, T., Konturek, S. J., Sliwowski, Z., Drozdowicz, D., Zaczek, M., Kedra, D. (1997) Role of L-arginine, a substrate for nitric oxide-synthase, in gastroprotection and ulcer healing. *J. Gastroenterol.* **32**: 442-452
- Calatayud, S., Borrachina, M. D., Espulgues, J. V. (2001) Nitric oxide: relation to integrity, injury, and healing of the gastric mucosa. *Microsc. Res. Tech.* **53**: 325-335
- Calis, I., Yuruker, A., Tasdemir, D., Wright, A. D., Sücher, O., Luo, Y. D., Pezzuto, J. M. (1997) Cycloartane triterpene glycosides from the roots of *Astragalus melanophyllus*. *Planta Med.* **63**: 183-186
- Calis, I., Abou-Gazar, H., Piacente, S., Pizza, C. (2001) Secondary metabolites from the roots of *Astragalus zahlbruckneri*. *J. Nat. Prod.* **64**: 1179-1182
- Chandranath, S. I., Bastaki, S. M. A., Singh, J. (2002) A comparative study on the activity of lansoprazole, omeprazole and PD-13450 on acidified ethanol- and indomethacin-induced gastric lesions in the rat. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **29**: 173-180
- Cui, Z. M., Li, Z. S., Xu, G. M., Zhan, X. B. (2002) Influence of N^G-nitro-L-arginine methyl ester and L-arginine on gastric mucosal tolerant cytoprotection under stress. *Chin. J. Dig. Dis.* **3**: 1-6
- Denizbasi, A., Yagen, C., Ozturk, M., Yegen, B. (2000) Role of nitric oxide in gastric injury induced by hemorrhagic shock in rats. *Pharmacology* **61**: 106-112
- Elliott, S. N., Wallace, J. L. (1998) Nitric oxide: a regulator of mucosal defense and injury. *J. Gastroenterol.* **33**: 792-803
- Gu, Y., Wang, G., Pan, G., Fawcett, J. P., Jiye, A., Sun, J. (2004) Transport and bioavailability studies of Astragaloside IV, an active ingredient in Radix Astragali. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* **95**: 295-298
- Kitagawa, I., Kang, H., Saito, M., Takagi, A., Yoshikawa, M. (1983) Saponin and sapogenol. XXXV. Chemical constituents of Astragali Radix, the root of *Astragalus membranaceus* Bunge (2). Astragalosides I, II and IV, acetylastragaloside I and Isoastragalosides I and II. *Chem. Pharm. Bull.* **31**: 698-708
- Lei, H., Wang, B., Li, W. P., Yang, Y., Zhou, A. W., Chen, M. Z. (2003) Anti-aging effect of astragalosides and its mechanism of action. *Acta Pharmacol. Sin.* **24**: 230-234
- Lewis, D., Hanson, P. J. (1991) Anti-ulcer drugs of plant origin. *Prog. Med. Chem.* **28**: 201-231
- Luo, Y., Qin, Z., Hong, Z., Zhang, X., Ding, D., Fu, J. H., Zhang, W. D., Chen, J. (2004) Astragaloside IV protects against ischemic brain injury in a murine model of transient focal ischemia. *Neurosci. Lett.* **363**: 218-223
- Ma, Z., Yang, Z. (1999) Scavenging effects of *Astragalus* and *Gynostemma pentaphyllum* with its product on O₂^{·-} and ·OH. *Zhong Yao Cai.* **22**: 303-306
- Marhuenda, E., Martín, M. J., Alarcon de la Lastra, C. (1993) Anti-ulcerogenic activity of aescine in different experimental models. *Phytother. Res.* **7**: 13-16
- Matsuda, H., Li, Y., Yoshikawa, M. (1999) Roles of capsaicin-sensitive sensory nerves, endogenous nitric oxide, sulfhydryls, and prostaglandins in gastroprotection by momordin Ic, an oleanolic acid oligoglycoside, on ethanol-induced gastric mucosal lesions in rats. *Life Sci.* **65**: PL27-PL32
- Navarrete, A., Martínez-Urbe, L. S., Reyes, B. (1998) Gastroprotective activity of the stem bark of *Amphipterygium adstringens* in rats. *Phytother. Res.* **12**: 1-4
- Navarrete, A., Trejo-Miranda, J. L., Reyes-Trejo, L. J. (2002) Principles of root bark of *Hippocratea excelsa* (Hippocrataceae) with gastroprotective activity. *J. Ethnopharmacol.* **79**: 383-388
- Oliveira, F. A., Vieira-Junior, G. M., Chaves, M. H., Almeida, F. R. C., Santos, K. A., Martins, F. S., Silva, R. M., Santos, F. A., Rao, V. S. N. (2004) Gastroprotective effect of the mixture of α- and β-amyrin from *Protium heptaphyllum*: role of capsaicin-sensitive primary afferent neurons. *Planta Med.* **70**: 780-782
- Rajic, A., Akihisa, T., Ukiya, M., Yasukawa, K., Sandeman, R. M., Chandler, D. S., Polya, G. M. (2001) Inhibition of trypsin and chymotrypsin by anti-inflammatory triterpenoids from Compositae flowers. *Planta Med.* **67**: 599-604
- Rios, J. L., Waterman, P. G. (1997) A review of the pharmacology and toxicology of *Astragalus*. *Phytother. Res.* **11**: 411-418
- Robert, A. (1979) Cytoprotection by prostaglandins. *Gastroenterology* **77**: 761-767
- Szabo, S., Trier, J. S., Frankel, P. W. (1981) Sulfhydryl compounds may mediate gastric cytoprotection. *Science* **214**: 200-202
- Verotta, L., Guerrini, M., El-Sebakhy, N. A., Asaad, A. M., Toaima, S. M., Abou-Sheer, M. E., Lou, Y. D., Pezzuto, J. M. (2001) Cycloartane saponins from *Astragalus peregrinus* as modulator of lymphocyte proliferation. *Fitoterapia* **72**: 894-905
- Wan, B., Gottfried, S. (1985) Cytoprotective action of carbenoxolone sodium on ethanol-induced gastric lesions in rats and its inhibition by indomethacin. *J. Pharm. Pharmacol.* **37**: 739-741
- Whittle, B. J. R., Lopez-Belmonte, J. (1993) Action and interaction of endothelins, prostacyclin and nitric oxide in the gastric mucosa. *J. Physiol. Pharmacol.* **44**: 91-107
- Whittle, B. J. R., Lopez-Belmonte, J., Moncada, S. (1990) Regulation of gastric mucosal integrity by endogenous nitric oxide: interaction with prostanooids and sensory neuropeptides in the rat. *Br. J. Pharmacol.* **99**: 607-611
- Yang, Q., Lu, J. T., Zhou, A. W., Wang, B., He, G. W., Chen, M. Z. (2001) Antinociceptive effect of astragalosides and its mechanism of action. *Acta Pharmacol. Sin.* **22**: 809-812
- Yesilada, E., Bedir, E., Calis, I., Takaishi, Y., Ohmoto, Y. (2005) Effects of triterpenes from *Astragalus* species on in vitro cytokine release. *J. Ethnopharmacol.* **96**: 71-77
- Zhang, W. J., Hufnagl, P., Binder, B. R., Wojta, J. (2003) Antiinflammatory activity of astragaloside IV is mediated by inhibition of NF-κB activation and adhesion molecule expression. *Thromb. Hemost.* **90**: 904-914
- Zhou, J. Y., Fan, Y., Kong, J. L., Wu, D. Z., Hu, Z. B. (2000) Effects of components isolated from *Astragalus membranaceus* Bunge on cardiac function injured by myocardial ischemia reperfusion in rats. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* **25**: 300-302

X. BIBLIOGRAFÍA

- Akiba, Y., Nakamura, M., Nagata, H., Kaunitz, J. y Ishil, H. (2002). Acid-sensing pathways in rat gastrointestinal mucosa. *J. Gastroenterol.* 37(Suppl XIV):133-138.
- Allen, A., Flemstrom, G., Garner, A. y Kivilaakso, E. (1993). Gastroduodenal mucosal protection. *Am. J. Physiol.* 73:823-857.
- Arrieta, J., Benítez, J., Flores, E. Castillo, C. y Navarrete, A. (2003). Purification of gastroprotective triterpenoids from the steam bark of *Amphipterygium adstringens*; role of prostaglandins, sulfhydryls, nitric oxide and capsaicin-sensitive neurons. *Planta Med.* 69: 905-910.
- Atay, S., Tarnawski, A. y Dubois, A. (2000). Eicosanoids and the stomach. *Prostaglandins Other Lipid. Mediat.* 61:105-124.
- Barbosa, P. y Ramos, C. (1992). Studies on the antiulcerogenic activity of the essential oil of *Hyptis mutabilis* Briq. in rats. *Phytother. Res.* 6:114-115.
- Bays, D. y Finch, H. (1990). Inhibitors of gastric acid secretion. *Nat. Prod. Rep.* 409-445.
- Bedir, E., Calis, I., Aquino, R., Piacente, S. y Pizza, C. (1998). Cycloartane triterpene glycosides from the roots of *Astragalus brachypterus* and *Astragalus microcephalus*. *J. Nat. Prod.* 61:1469-72.
- Bernardi, C., Camarero, M., Spehrs, V.(2003). Secreción. Dvorkin, M. A., Cardinali, D. P. Best y Taylor. Bases fisiológicas de la práctica médica. Ed. Panamericana 13 ed. 523-526.

- Bertaccini, G. y Coruzzi, G. (1985). Pharmacology of the treatment of peptic ulcer disease. *Dig. Dis. Sci.* 30 (suppl. 11):435.
- Blazer, M. y Parsonnet, J. (1994). Parasitism by "show" bacterium *Helicobacter pylori* leads to altered gastric homeostasis and neoplasia. *J. Clin. Invest.* 94:4-8.
- Borrelli, F. e Izzo, A. (2000). The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. *Phytother. Res.* 14:581-591.
- Bronislaw, L., Slomiany, J., Piotrowski, y Slomiany, A. (1999). Gastric mucosal inflammatory responses to *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide: down-regulation of nitric oxide synthase-2 and caspase-3 by sulglycotide. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 261(1):15-20.
- Brunton, L. (1996). Agents control of gastric acidity and treatment of peptic ulcers. J. Hardman, P. Molinoff, Ruddon y A. Goodman (eds). Goodman and Gilman The pharmacological basis of therapeutics. 9th ed. Ed. McGraw-Hill. USA. 901-917.
- Brzozowski, T. (2003). Experimental production of peptic ulcer, gastric damage and cancer models and their use in pathophysiological studies and pharmacological treatment – polish achievements. *J. Physiol. Pharmacol.* 54: (S3) 99-126.
- Brzozowski, T., Konturek, S., Sliwowski, Z., Drosdowicz, D., Zaczek, M. y Kedra, D. (1997). Role of L-arginine, a substrate for nitric oxide-synthase, in gastroprotection and ulcer healing. *J. Gastroenterol.* 32: 442-452.
- Calis, I., Yuruker, A., Tasdemir, D., Wrigth, A. D., Sticher, O., Luo, D. y Pezzuto, J. M. (1997). Cycloartane triterpene glycosides from the roots of *Astragalus melanophrurius*. *Planta Med.* 63: 183-186.

- Calum C. L., Mark, S., Amanda, J., Smith, C. E., Griffiths, M. y Beck, M. H. (2000).
Topical sucralfate in the management of peristomal skin disease: an open study
Blackwell. *Clin. Exp. Dermatology* 25:584-588.
- Chandranath, S., Bastaki, S. y Singh, J. (2002). A comparative study on the activity of
lansoprazole, omeprazole and PD-13450 on acidified ethanol-and indomethacin-
induced gastric lesions in the rat . *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 29: 173-80.
- Class, S. (2005). Sales grew in the past year, but the pharmaceutical industry saw many
major products come under fire and was challenged in moving new forward. *Chem.
Eng. News.* 83: 15-32.
- Cui, Z., Li, Z., Xu, G. y Zhan, X. (2002). Influence of N^G-nitro-L-arginine methyl ester
and L-arginine on gastric mucosal tolerant cytoprotection under stress. *Chin. J.
Dig. Dis* 3: 1-6.
- De Vincentis, A., Bartosek, I. y Vargiu, G. (1991). Alginato in drugs in gastroenterology,
Ed. B y P. C. Braga, P., Guslandi, M. y Tittobello, A. Ed. Raven Press, New Cork
256-260.
- Denizbasi, A., Yagen, C., Ozturk, M. y Yegen B.(2000). Role of nitric oxide in gastric
injury induced by hemorrhagic shock in rats. *Pharmacol* 61: 106-112.
- Du, M., Wu, X. J., Ding, J., Hu, Z. B., White, K. N. y Brandford-White C. J. (2003).
Astragaloside IV and polysaccharide production by hairy roots of *Astragalus
membranaceus* in bioreactors. *Biotechnol. Lett.* 25:1853-1856.
- Elliot, S. y Wallace, J. (1998). Nitric oxide: a regulator of mucosal defense and injury. *J.
Gastroenterol.* 33: 793-803.

- Fernández, S. (2003). La mortalidad en la población derechohabiente del IMSS, 2001. *Rev. Med. IMSS*. 41: 345-354.
- Flórez, J. y Espulgues, V. (1999). Farmacología de la secreción ácida gástrica y de la ulceración mucosa. Flórez, J. Armijo y A. Mediavilla. Farmacología humana 3ª ed. Ed. Masson S. A. 756-784.
- Furukawa, O., Kitamura, M., Sugamoto, S. y Takeuchi, K. (1999). Stimulatory effect of nitric oxide on bicarbonate secretion in bullfrog duodenums in vitro. *Digestion*. 60(4): 324-331.
- Gallimore, D. y Jordan, S. (2004). Prescription drugs: uses and effects. *Nurs. Stand*. 19:14-17.
- Galvin, G. y Szabo, S. (1992). Experimental gastric injury: laboratory models reveal mechanism of pathogenesis and new therapeutic strategies. *FASEB J*. 6: 825 – 31.
- Ganong, W. F. (1996). Fisiología Médica. Ed. El Manual Moderno. 15 ed. México 545
- Gu, Y., Wang, G., Pan, G., Fawcett, J.P., Jiye, A. y Sun, J. (2004). Transport and bioavailability studies of Astragaloside IV, an active ingredient in Radix Astragali. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol*. 95: 295-298.
- Gupta, M., Nath, R., Gupta, G. y Bhargava, K. (1981). *Ind. J. Res*. 73:649-652.
- Guth, P. (1973). Experimental production of peptic ulcer. *Gastroenterol*. 64: 1187-88.
- Hei, Z.Q., Huang, H.Q., Zhang, J.J., Chen, B.X. y Li, X.Y. (2005) Protective effect of *Astragalus membranaceus* on intestinal mucosa reperfusion injury after hemorrhagic shock in rats. *World J. Gastroenterol*. 11(32):4986-91.
- Holzer, P. (1998). Neural injury, repair, and adaptation in the GI tract II. The elusive action of capsaicin on the vagus nerve. *Am. J. Physiol*. 275:G8-G13.

- Holzer, P. y Sametz, W. (1986). Gastric mucosal protection against ulcerogenic factors in the rat mediated by capsaicin-sensitive efferent neurons. *Gastroenterol.* 91(4): 975-81.
- Hoogerwef, W. A. y Pasricha, P.J. (2001). Agents used for control of gastric and treatment of peptic ulcers and gastroesophageal reflux disease. In J.G. Hardman L.L. Limbird y A.G. Gilman (eds). Goodman and Gilman. The pharmacological basis of therapeutics 10th ed. McGraw-Hill. USA. 1005-1020.
- IMSS (Instituto Mexicano del Seguro Social) (2004). Úlcera Péptica hemorrágica. *Med. Urg. Prim. Niv. Aten.* 1-4.
- Jerzey, G. (1970). Progresos en gastroenterología. Vol. 1. Ed. Científico Médica. Barcelona España.
- Jia, R. Z., Jiang, L., Qiao, L. X. y Chen, P. S. (2003). Neuroprotective effects of *Astragalus membranaceus* on hypoxia-ischemia brain damage in neonatal rat hippocampus. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi/Zhongguo Zhongyao. J. Chin. Mat. Med.* 28 (12):1174-7.
- Kitagawa, I., Kang, H., Saito, M., Takagi, A. y Yoshikawa, M. (1983). Saponin and saponin. XXXV. Chemical constituents of *Astragali radis*, the root of *Astragalus membranaceus* bunge (2). Astragalosides I, II and IV, acetylastragaloside I and Isoastragalosides I and II. *Chem. Phar. Bull.* 31: 698-708.
- Ko, J.K., Law, F.Y. y Cheung, A. P. (2005). Amelioration of experimental colitis by *Astragalus membranaceus* through anti-oxidation and inhibition of adhesion molecule synthesis. *J. Gastroenterol.* 5787-94

- Kobayash, H., Mizuno, N., Teramach-Kutsuna, H., Jeoku, S., Onoyama, J., Yamanaka, K., Fajita, N. y Ishij, M. (2004). Diet and Japanese herbal medicine for recalcitrant atopic dermatitis and safety. *Drugs. Exp. Clin. Res.* 30(5-6):197-202.
- Kontureck, S. (1990). Mechanism of gastroprotection growth factor in gastroprotection and ulcer healing. *Scand. J. Gastroenterol.* 23:129-133.
- Kontureck, S., Brzozowski, T., Piasttucki, I., Radecki, T., Dupuy, D. y Szabo, S. (1987). Gastric mucosal protection by agents altering gastric mucosal sulfhydryls. *Digestion.* 37:65-71.
- Kusum, M., Klinbuayaem, V., Bunjob, M. y Sangkotporn, S. (2004). Preliminary efficacy and safety of oral suspension SH, Combination of 5 chinese medicinal herbs in people living with HIV/AIDS; the phase I/II study. *J. Med. Asoc. Thailand* 87(9):1065-70.
- Lam, S. (1984). Patogénesis and pathophysiology of duodenal ulcer. *Clin. Gastroenterol.* 13:24-49.
- Lanza, F. (1984). Endoscopic studies of gastric and duodenal injury alter the use of ibuprofen, aspirin and other non-steroidal anti-inflammatory agents. *Am. J. Med.* 77:19-24.
- Lee, H. J. (2005). Effects of medicinal herb tea on the smoking cessation and reducing smoking withdrawal symptoms. *Am. J. Chin. Med.* 33(1):127-38.
- Lei, H., Wang, B., Li, W.P., Yang, Y., Zhou, A.W. y Chen, M.Z. (2003). Anti-aging effect of astragalosides and its mechanism of action. *Acta Pharmacol. Sin.* 24:230-234.

- Lewis, D.A. y Hanson, P.J. (1991). Anti-ulcers drugs of plant origin. *Prog. med. chem.* 28:201-231.
- Li, J. X., Xue, B., Chai, Q., Liu, Z. X., Zhao, A. P. y Chen, L. B. (2005). Antihypertensive effect of total flavonoid fraction of *Astragalus complanatus* in hypertensive rats. *Chin. J. Physiol.* 48(2):101-6.
- Ligumsky, M., Kramaski, F. y Rochmilewitz, D. (1984). Sucralfate stimulation of gastric PGE synthesis: possible mechanism to explain its effective cytoprotective mechanism. *Gastroenterol.* 87:1164.
- Liu, C. Y., Gu, Z. L., Zhou, W.X. y Guo, C.Y. (2005). Effect of *Astragalus complanatus* flavonoid on anti-liver fibrosis in rats. *J. Gastroenterol.* 11(37):5782-6.
- Liu, J., Liang, P., Yin, C., Wang, T., Li, H., Li, Y. y Ye, Z.(2004). Effects of several chinese herbal aqueous extracts on human sperm motility in vitro. *Andrología* 36(2):78-83.
- Luo, Y., Qin, Z., Hong Z., Zhang, X., Ding, D., Fu, J.H., Zhang, W.D. y Chen, J. (2004) Astragaloside IV protects against ischemic brain injury in a murine model of transient focal ischemia. *Neurosci. Lett.* 363:218-223.
- Ma, Z. y Yang, Z.(1999). Scavenging effects of *Astragalus* and *Gynostemma pentaphyllum* with its product on O₂⁻ and .OH. *Zhong Yao Cai.* 22:303-306.
- Maity, S., Rajan, J. y Kumar, D. (1998). Role of glutation in the antiulcer effect of hot water extract of black tea (*Camellia sinensis*). *Jpn. J. Pharmacol.* 78:285-292.
- Marhuenda, E., Martin, M.J. y Alarcon de la Lastra, C. (1993). Anti-ulcerogenic activity of aescine in different experimental models. *Phytother. Res.* 7:13-16.

- Marshall, B. y Warren, R. Premio Nobel de Medicina 2005. (2005) Gaceta de la Facultad de Medicina No. 535 UNAM.
- Matsuda, H., Li, Y., y Yoshikawa, M. (1999). Roles of capsaicin-sensitive sensory nerves, endogenous nitric oxide, sulfhydryls and prostaglandins in gastroprotection by momordin Ic. And oleanolic acid oligoglycoside, on ethanol induced gastric mucosal lesions in rats. *Life Sci.* 65:27-32.
- Meng, D., Chen, X. J., Bian, Y.Y., Li, P., Yang, D. y Zhang, J. N. (2005). Effect of astragalosides on intracellular calcium overload in cultured cardiac myocytes of neonatal rats. *Am. J. Chin. Med.* 33(1):127-38.
- Mersereau, A. W. e Hinchey, E. J. (1982). Prevention of phenylbutazone ulcer in the rat by glucose: role of a glycoprivic receptor system. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 242: G429-G432.
- Navarrete, A., Trejo-Miranda, J. y Reyes-Trejo, L. (2002). Principles of root bark *Hippocratea excelsa* (Hippocrataceae) with gastroprotective activity. *J. Ethnopharmacol.* 79:383-388.
- Navarrete, A., Martínez-Urbe, L. y Reyes, B. (1998). Gastroprotective activity of the stem bark of *Amphiterygium adstringens* in rats. *Phytother. Res.* 12: 1-4.
- Navarrete, A. Reyes, B., Silva, A., Sixtos, C., Islas, V. y Estrada, E. (1990). Evaluación farmacológica de la actividad de *Amphiterygium adstringens* (Cuachalalate). *Rev. Mex. Cienc. Farm.* 21: 28-32.
- Nishiwaki, H., Takeda, H., Kitagawa y Khoel, H. (1989). Roles of gastric acid secretion and motility in gastric mucosal lesion formation induced by water immersion stress in rat. *Scand. J. Gastroenterol.* 24(suppl. 162):11-14.

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Estados Unidos Mexicanos. SAGARPA.

O'Brien, P., Schutz, C., Gannon, B. y Browning, J. (1986). Protective effects of the synthetic prostaglandin enprostil on the gastric microvasculature alter ethanol injury in the rat. *Am. J. Med.* 81(suppl.162):11-14.

Oliveira, F.A., Vieira-Junior, G.M., Chavez, M.H., Almeida, F.R.C., Santos, K.A., Martinez, F.S., Silva, R.M., Santos, F.A., Rao, V.S.N. (2004). Gastroprotective effect of the mixture of α - and β -amyrin from *Protium heptaphyllum*: Role of capsaicin-sensitive primary afferent neurons. *Planta Med.* 70: 780-782.

Peskar, B. y Maricci, N. (1998). Role of prostaglandins in gastroprotection. *Dig. Dis. Sci.* 43 (suppl. 9):23s-29s.

Rajic, A., Akihisa, T., Ukiya, M., Yasukawa, K., Sandeman, R.M., Chandler, D.S., Polya, G.M. (2001). Inhibition of trypsin and chymotrypsin by anti-inflammatory triterpenoids from Compositae flowers. *Planta Med.* 67:599-604.

Robert, A., Nezamis, J., Lancaster, C., Davis, J., Field, S. y Hanchar, A. (1983). Mild irritants prevent gastric necrosis through adaptive cytoprotection mediated by prostaglandins. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 8:G113-G121.

Robert, A. (1979). Cytoprotection by prostaglandins. *Gastroenterol.* 77:761-767.

Rodríguez, E. (2000). Secreciones digestivas. Cingolani, H. E., Houssay, A. B. Fisiología Humana de Houssay. Ed. El Ateneo, España, 179-184.

Salvemini, D. (1997). Regulation of cyclooxygenase enzymes by nitric oxide. *Cell. Mol. Life Sci.* 53:576-582.

- Samet, J. (2002). Los riesgos del tabaquismo activo y pasivo. *Salud Pública de México*
Instituto Nacional de Salud Pública Cuernavaca, Méx. No. 5 44:S144-S160.
- Secretaria de Salud del Gobierno del Distrito Federal (2003). *Univ. Salud.* 3: 1-48
- Shay, H., Komorov, S. A. Fels, S.S., Meranze, D., Grunstein, M., Sipler, H. (1945). A
simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat.
Gastroenterol. 5: 43-61.
- Shorrock, C., Prescott, J., Ress, D. (1990). The effects of indometacin on gastroduodenal
morphology and mucosal pH gradient in the healthy human stomach.
Gastroenterol. 99:334-339.
- Shorrock, C. y Rees, W. (1988). Overview of gastroduodenal mucosal protection. *Am. J.*
Med. 84 (suppl. 2A). 25-34.
- Silen, W. (1988). Experimental models of gastric ulceration and injury. *Am. J. Physiol.*
255: 395-402.
- Smith, H. y Thier, O. (1989). Fisiopatología. Principios biológicos de la enfermedad. 2^a
ed. Ed. Panamericana. Buenos Aires, Argentina.
- Snykers, F. y Fourie, T. (1989). *Eur. Patent* EP 93520. EN. 100:39613.
- Sodeman, A. y Sodeman, M. (1984). Fisiopatología clínica. Mecanismos de producción
de los síntomas. 6^a ed. Ed. Interamericana. México, D. F.
- Soll, A. (1994). Úlceras gástricas, duodenal y por estrés. M. Sleinsehger, J. fordtran, B.
Scharschmidet, M. Feldman y J. Cello (eds). Enfermedades gastrointestinales
fisiología, diagnóstico y tratamiento. Tomo 1: 623-624.
- Spiro, M. (1987). Peptic ulcer is not a disease-only a sing. *J. Clin. Gastroenterol.*9:623

- Szabo, S., y Goldberg, I. (1990). Experimental patogénesis: drugs and chemical lesion in the gastric mucosa. *Scand. J. Gastroenterol.* 25 (suppl. 174):1-8.
- Szabo, S; Their, J; Brown, A; Schoor, J. (1985). Early vascular injury and increased vascular permeability in gastric mucosal injury by ethanol in the rat. *Gastroenterol.* 88: 228-36.
- Szabo, S., Trier, J., Frnakel, P. (1981). Sulfhydryl compounds may mediate gastric cytoprotection. *Science* 214:200-202.
- Takahashi, S., Takeuchi, K. y Okabe, S. (1999). EP₄ receptor mediation of prostaglandin E₂-stimulated mucus secretion by rabbit gastric epithelial cells. *Bioche. Pharmacol.* 58:1997-2002.
- Takeuchi, K., Kitamura, M. y Kubomi, M. (1998). Stimulation of duodenal bicarbonato secretion by carbenoxolone in rats: A comparative study with prostaglandin E₂. *Gen. Pharmacol.* 30:739-744.
- Tanaka, A., Araki, H., Komoike, Y., Hase, S. y Takeuchi, K. (2001). Inhibition of both COX-1 and COX-2 is required for development of gastric damage in response to noesteroidal anti-inflammatory drugs. *J. Physiol. Paris.* 95: 21-27.
- Torres J. 2003. Infección por *Helicobacter pylori* en niños y adultos. *Salud IMSS* 18-28.
- Tsukimi, Y y Okabe, S. (2001). Recent advances in gastrointestinal pathophysiology: role of heat shock proteins in mucosal defense and ulcer healing. *Biol. Pharm. Bull.* 24: 1-9.
- Valadez, N. (1989). Síndromes gastroenterológicos más frecuentes en México. *Etiofisiopatogenia.* ENEP Iztacala UNAM.

- Verotta, L., Guerrini, M., El-Sebakhy, N.A., Asaad, A.M., Toaima, S.M., Abou-Sheer, M. E., Lou, Y.D. y Pezzuto, J.M. (2001). Cycloartane saponins from *Astragalus peregrinus* as modulator of lymphocyte proliferation. *Fitoretapia* 72: 894-905.
- Wan, B. y Gottfried, S. (1985). Citoprotective action of carbenoxolone sodium on ethanol-induced gastric lesion in rats and its inhibition by indomethacin. *J. Pharm. Pharmacol.* 37:739-741.
- Wang, D. Q., Tian, Y. P., Song, Z. S., Wang, L. (2003). Anti-mutagenesis effects of total flavonoids of *Astragalus*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi/Zhongguo Zhongyao Zazhi/China J. Chin. Mat. Med.* 28(12):1164-7
- Wang, Y., Li, X. Song, C., Hu, Z. (2002). Effect of astragaloside IV on T, B lymphocyte and peritoneal macrophage function in mice. *Acta Pharmacol Sin.* 23(3):263-266.
- Whittle, B. y Lopez-Belmonte J. (1993). Action and interaction of endothelins, prostacyclin and nitric oxide in the gastric mucosa. *J. Physiol. Pharmacol.* 44: 91-107.
- Whittle, B., Lopez-Belmonte, J. y Moncada, S. (1990). Regulation of gastric mucosal integrity by endogenous nitric oxide: interaction with prostanoids and sensory neuropeptides in the rat. *Br. J. Pharmacol.* 99: 607-11.
- Wu, Y., Ou-Yang, J. P., Wu, K., Wang, Y., Zhou, Y. F. Wen, C. U. (2005). Hypoglycemic effect of *Astragalus* polysaccharide and its effect on PTPIB. *Act. Pharm. Sinc.* 26(3):345-52.
- Wyngaarde, S. (1985). Tratado de medicina interna. Vol. 1. 16ª ed. Ed. Interamericana México D. F.

- Xue, S., Chen, S., Wu, J. y Wang, M. (1996). Antigastric ulcerative actions emulsive granules of seed oil of *Brucea Javanica*. *Shenyang Yaoke Daxue Xuebao*. 13:13-17.
- Yamazaki, M. (1983). Jpn. Kokai Tokio JP. 5857316; En *Chem. Abstr.* 99:16563.
- Yang Q. Lu JT. Zhou AW. Wang B. He GW. Chen MZ. (2001). Antinociceptive effect of astragalosides and its mechanism of action. *Acta Pharmacol Sin.* 22:809-812
- Yesilada E., Bedir E., Calis I., Takaishi Y., Ohmoto Y. (2005). Effect of triterpenes from *Astragalus* species on in vitro cytokine release. *J Ethnopharmacol.* 96: 71-77.
- Zhang, B. Q., Hu, S. J., Qiu, L. H., Shan, Q. X., Sun, J. Xia, Q., Bian, K.(2005). Diphasic effects of *Astragalus membranaceus* BUNGE (leguminasae) on vascular tone in rat thoracic aorta. *Biol. Pharm. Bull.* 28(8):1450-4.
- Zhang, C. Z., Wang, S. X., Zhang, Y. Chen, J. P., Liang, X. M. (2005). In vitro estrogenic activities oh chinese medicinal plants traditionally used for mamagement of menopausal symptoms. *J. Ethnopharmacol.* 98(3):295-300.
- Zhang, J., Yan, C., Zhan, Y., Gao, W., Zhai, X. (1990). Effect of Scopolia drugs on the gastric mucosal lesions in rats. *Yaoxue Xuebao.* 25(2):90-4. *Chem. Abstr.* (1990) 112:40.
- Zhang, W., Zhang, C. Liu, R., Li, H., Zhang, J., Chen, C.(2005). Quantitative determination of astragaloside IV, a natural product with cardioprotective activity, in plasm, urine, and other biological samples by HPLC coupled with tandem mass spectroscopy. *J. of chromatography analitical technologies in the biomedical Sciences* 822(1-2):170-177.

Zhang, W.J., Hufnagl, P., Binder, B. R., Wojta, J. (2003). Antiinflammatory activity of astragaloside IV is mediated by inhibition of NF- κ B activation and adhesion molecule expression. *Thromb. Hemost.* 90: 904-914.

Zhou J.Y., Fan Y., Kong J.L., Wu D.Z., Hu Z.B. (2000). Effects of components isolated from *Astragalus membranaceus* Bunge on cardiac function injured by myocardial ischemia reperfusion in rats. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* 25:300-302