



Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

**Evaluación de la actividad gastroprotectora de juanislamin
utilizando el modelo de lesiones gástricas inducidas por
indometacina y estudio de su actividad antisecretora**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADA EN QUÍMICA FARMACÉUTICO BIOLÓGICA

P R E S E N T A:

Ana Victoria Estrella Arguijo

Director de tesis:

M. en C. Yaraset López Lorenzo

Asesor de tesis:

Dra. Leticia Cruz Antonio

Ciudad de México, 2021.





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza por permitirme formarme en ella.

A la M en C. Yaraset López Lorenzo, a quien estimo y admiro, por el tiempo dedicado a este proyecto, sus enseñanzas, apoyo, comprensión y paciencia durante la dirección de esta tesis.

A la Dra. Leticia Cruz Antonio, por su atención, confianza, comprensión, apoyo y disposición para aclarar mis dudas y por haberme permitido el desarrollo de esta tesis.

Al Dr. Jesús Arrieta Valencia, por el tiempo dedicado al desarrollo de este proyecto.

A la Dra. María Elena Sánchez Mendoza, por sus enseñanzas y consejos.

A mis sinodales, el Dr. Rodrigo González Olvera, Dr. Valentín Islas Pérez y Dr. Isidro Hinojosa López, por el tiempo invertido en revisar el presente trabajo, por su compromiso, amabilidad, disposición, observaciones, correcciones y sugerencias, para contribuir con la mejora del proyecto.

Al E.F.H y C. Osvaldo Ramírez Ugalde, por su apoyo, comentarios y observaciones.

A mi familia; mi madre María del Rosario Arguijo Servín por todo el apoyo brindado durante mi formación y por ayudarme a cumplir mis metas. A mi hermana Diana Estrella Arguijo por estar siempre a mi lado y a mi padre Pedro Estrella Mújica

Este es un momento especial, que espero que perdure no solo en la mente de las personas a quienes agradecí, sino también en la de quienes invirtieron su tiempo para mirar mi proyecto de tesis, les agradezco.

DEDICATORIA

A todas las Químicas Farmacéuticas Biólogas dedicadas a la investigación de plantas medicinales mexicanas.

A mi Estrella, Matilde.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	7
2. MARCO TEÓRICO	8
2.1 Definición de úlcera péptica.....	8
2.2 Epidemiología	8
2.3 Etiología y patología	8
2.4 Factores agresores	9
2.4.1 Factores agresores endógenos	9
2.4.1.1 Ácido clorhídrico	9
2.4.1.2 Pepsina	10
2.4.1.3 Sales biliares	10
2.4.2 Factores agresores exógenos	10
2.4.2.1 Medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINE's)	11
2.4.2.2 Alcohol	11
2.4.2.3 Tabaco	11
2.4.2.4 Estrés	12
2.4.2.5 <i>Helicobacter pylori</i>	13
2.5 Factores protectores	13
2.5.1 Factores protectores funcionales	14
2.5.1.1 Capa de moco-bicarbonato	14
2.5.1.2 Microcirculación	14
2.5.1.3 Motilidad	14
2.5.2 Factores humorales	15

2.5.2.1 Prostaglandinas	15
2.5.2.2 Óxido nítrico	16
2.5.3 Factores neuronales (neuronas sensibles a capsaicina)	16
2.5.4 Otros factores protectores	16
2.6 Tratamiento farmacológico contra úlceras pépticas	16
2.6.1 Antiácidos	17
2.6.1.1 Antiácidos absorbibles	17
2.6.1.2 Antiácidos no absorbibles	17
2.6.2 Citoprotectores	18
2.6.2.1 Sales de bismuto	18
2.6.2.2 Sucralfato	18
2.6.2.3 Análogos de las prostaglandinas	19
2.6.2.4 Carbenoxolona	19
2.6.3 Antisecretores	19
2.6.3.1 Antagonistas muscarínicos	20
2.6.3.2 Antagonistas de los receptores H ₂	20
2.6.3.3 Inhibidores de la bomba H ⁺ /K ⁺ -ATPasa	22
2.7 Tratamientos alternativos	24
2.8 Lactonas sesquiterpénicas	24
2.9 Juanislamin	27
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	28
4. HIPÓTESIS	29
5. OBJETIVO	30

6. METODOLOGÍA	31
6.1 Animales	31
6.2 Fármacos	31
6.3 Obtención de los extractos de <i>Calea urticifolia</i>	31
6.4 Aislamiento de juanislamin	32
6.5 Modelo de lesiones gástricas inducidas con indometacina	34
6.6 Actividad antsecretora de juanislamin	36
6.7 Participación de los receptores M ₃ de acetilcolina, CCK ₂ de gastrina y H ₂ de histamina en el mecanismo de acción de juanislamin	36
6.8 Análisis estadístico	40
7. RESULTADOS	41
7.1 Efecto gastroprotector de juanislamin, en el modelo de lesiones gástricas inducidas con indometacina	41
7.2 Actividad antsecretora de juanislamin	44
8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	47
9. CONCLUSIONES	52
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

RESUMEN

Las úlceras pépticas son lesiones en el tracto gastrointestinal derivadas de un desequilibrio entre los factores agresores y protectores de la mucosa gástrica. El tratamiento farmacológico está dirigido principalmente a eliminar el dolor, reducir la acidez gástrica y fortalecer la barrera de la mucosa gástrica. Sin embargo, lleva consigo numerosos efectos adversos indeseables para el organismo. Por ello, es necesaria la búsqueda de otras alternativas terapéuticas con mayor eficacia y mínimos efectos adversos. En este sentido, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad gastroprotectora de juanislamin (aislado de las hojas de *Calea urticifolia*), en el modelo de lesiones gástricas inducidas con 40 mg/kg de indometacina y su actividad antsecretora utilizando el modelo de ligadura de píloro. Los resultados demuestran que juanislamin presenta un efecto gastroprotector no dependiente de la dosis. El efecto máximo se obtuvo con la dosis de 30 mg/kg (97.43 ± 1.15 % de gastroprotección) y una menor actividad con 3 y 10 mg/kg; en cuanto a carbenoxolona, el efecto máximo se alcanzó con la dosis de 100 mg/kg (75.75 ± 2.53 % de gastroprotección), siendo esta menos potente que juanislamin. Por otro lado, juanislamin también mostró un efecto antsecretor al incrementar significativamente el pH (5.78 ± 0.31), comparado con el grupo control (1.89 ± 0.12). Valores similares fueron encontrados con omeprazol (5.98 ± 0.24). Al explorar las vías de secreción mediante la participación de los receptores H₂, M₃ y CCK₂, se encontró que juanislamin es capaz de incrementar significativamente el pH (2.89 ± 0.05), con respecto al grupo control de pentagastrina (1.32 ± 0.06). Lo cual indica que probablemente juanislamin pudiera estar actuando a través de los receptores a colecistoquinina tipo CCK₂ y en cuanto al volumen gástrico juanislamin no inhibe la secreción gástrica.

1. INTRODUCCIÓN

Las úlceras pépticas son lesiones que se presentan en el tracto gastrointestinal, principalmente en el estómago, duodeno y con menor frecuencia en el esófago, ⁽¹⁾ como resultado de un desequilibrio entre los factores agresores y protectores de la mucosa gástrica. ⁽²⁾ Este padecimiento afecta alrededor del 10-15% de la población en algún momento de su vida ⁽³⁾ y, en México ocupa el cuarto lugar dentro de las veinte principales enfermedades con mayor índice de morbilidad. ⁽⁴⁾ La estrategia terapéutica para su tratamiento está enfocada principalmente en eliminar el dolor, reducir la acidez gástrica y fortalecer la barrera de moco-bicarbonato de la mucosa gástrica, sin embargo, los fármacos que se utilizan actualmente provocan efectos adversos indeseables en el organismo; es por ello que surge la necesidad de buscar nuevos fármacos y alternativas terapéuticas con mínimos efectos adversos, ⁽³⁾ siendo una de ellas el uso de plantas medicinales, la cual es una fuente importante para la obtención de nuevos fármacos que pudieran utilizarse en el tratamiento de las úlceras pépticas. En este sentido, *Calea urticifolia* es una planta a la cual se le ha demostrado actividad gastroprotectora contra el daño inducido con etanol, y se han aislado compuestos (lactonas sesquiterpénicas con un esqueleto de germacrano) responsables de la actividad, siendo algunos de ellos, calealactona B, ⁽³⁾ caleína D, ⁽⁵⁾ 2,3-epoxijuanislamina ⁽⁶⁾ y juanislamin. ⁽⁷⁾ Por lo que el presente trabajo tiene como objetivo evaluar la actividad gastroprotectora de juanislamin, mediante el modelo de lesiones gástricas inducidas con indometacina y estudio de su actividad antisecretora utilizando, el modelo de ligadura de píloro.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Definición de úlcera péptica

Las úlceras pépticas son lesiones en el tracto gastrointestinal que se presentan principalmente en el estómago, duodeno y con menor frecuencia en el esófago, ⁽¹⁾ que penetran más allá de la capa *muscularis mucosae* y tienen un diámetro mayor a 5 milímetros. ⁽⁸⁾

Dependiendo de su ubicación anatómica se clasifican como; úlceras gástricas, cuando se localizan a lo largo de la curvatura menor del estómago y como úlceras duodenales, cuando se presentan en el bulbo duodenal. ⁽⁹⁾

2.2 Epidemiología

Las úlceras pépticas son uno de los padecimientos gastrointestinales de mayor incidencia y prevalencia, ⁽¹⁾ que afecta aproximadamente del 10-15 % de la población a nivel mundial. ⁽¹⁰⁾

De acuerdo con el Boletín Epidemiológico del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, en México este padecimiento ocupa el cuarto lugar dentro de las veinte principales enfermedades con mayor índice de morbilidad; reportando 696 420 casos para este año 2021.

⁽¹¹⁾

2.3 Etiología y patología

Las úlceras pépticas son lesiones de origen multifactorial, ⁽¹⁰⁾ que se desarrollan por un desequilibrio entre los factores protectores y agresores de la mucosa gástrica, ⁽³⁾ caracterizándose por necrosis, infiltración de neutrófilos, reducción del flujo sanguíneo, inducción de estrés oxidativo y secreción de mediadores antiinflamatorios, ⁽¹⁾ los cuales contribuyen a la formación de las úlceras pépticas. ⁽¹²⁾ El consumo de alcohol y tabaco, la

ingesta de medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINE's), infección por *Helicobacter pylori* y el estrés también son factores agresores que favorecen en la aparición de las úlceras.

(13)

2.4 Factores agresores

La mucosa gástrica se encuentra constantemente atacada por agentes agresores endógenos; y exógenos ⁽¹⁴⁾ que promueven la ruptura de la barrera de la mucosa gástrica, quedando expuesta a los efectos dañinos del jugo gástrico. ⁽⁸⁾

2.4.1 Factores agresores endógenos

Dentro de los factores agresores endógenos, se encuentran; el ácido clorhídrico, la pepsina y las sales biliares, los cuales son los componentes principales del jugo gástrico. ⁽¹⁵⁾

2.4.1.1 Ácido clorhídrico

La secreción de ácido gástrico es estimulada principalmente por: gastrina, histamina y acetilcolina. El ácido gástrico contribuye a eliminar a los microorganismos, participa en la digestión y facilita la absorción de calcio, hierro y vitamina B₁₂. Sin embargo, cuando los niveles de ácido clorhídrico superan a los mecanismos de defensa en la mucosa gástrica, se generan úlceras ⁽¹⁶⁾ debido a que permite la difusión del ácido gástrico hacia el interior de la mucosa gástrica. ⁽¹⁷⁾

2.4.1.2 Pepsina

La pepsina es la principal enzima del jugo gástrico, lleva a cabo la degradación de las proteínas, mediante la hidrólisis de los enlaces peptídicos. ⁽¹⁸⁾ A un pH ácido, la pepsina hidroliza y erosiona lentamente la capa de moco. Este daño se caracteriza por áreas focales en la capa de moco, formando úlceras puntiformes hemorrágicas localizadas en el lumen. ⁽¹⁹⁾

2.4.1.3 Sales biliares

Las sales biliares son moléculas anfipáticas, similares a los esteroides, que se sintetizan en el hígado y se utilizan para emulsionar y transportar grasas y vitaminas liposolubles. La manera por la cual las sales biliares provocan daño en la mucosa gástrica aún no se conoce en su totalidad, ⁽²⁰⁾ pero se sabe que cuando hay un incremento en los niveles de H^+ y Na^+ , el pH disminuye en el estómago y aumenta los efectos dañinos de las sales biliares, permitiendo que difundan a la mucosa gástrica, provocando lesiones en el estómago. ⁽²¹⁾ Asimismo, los ácidos biliares tienen propiedades detergentes, que van degradando la capa de moco-bicarbonato. ⁽²⁰⁾

2.4.2 Factores agresores exógenos

Algunos factores agresores exógenos: como la ingesta a largo plazo de medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINE's), el consumo de alcohol y tabaco, el estrés y la infección por *Helicobacter pylori*, pueden facilitar las condiciones para el desarrollo de úlceras pépticas. ⁽¹⁵⁾

2.4.2.1 Medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINE's)

Los medicamentos antiinflamatorios no esteroideos son los más utilizados en el tratamiento del dolor, sin embargo, son responsables de ocasionar reacciones adversas en el tracto gastrointestinal, como la formación de úlceras pépticas. El mecanismo mediante el cual los AINE's generan úlceras pépticas resulta de la inhibición no selectiva de las ciclooxigenasas (COX), impidiendo la biosíntesis de prostaglandinas. Existen dos isoenzimas, COX-1 y COX-2, la primera se expresa de forma constitutiva en varios tejidos incluyendo el estómago y juega un papel muy importante en el mantenimiento de la mucosa gastrointestinal. Mientras que la segunda se expresa en la mayoría de los tejidos en respuesta a factores de crecimiento y citoquinas, además de participar en procesos patológicas como la inflamación. ⁽²²⁾

2.4.2.2 Alcohol

El etanol es un agente necrosante que afecta la integridad de la mucosa gástrica, aumentando su permeabilidad y en algunos casos provoca sangrado. Asimismo, el etanol genera úlceras gástricas al disminuir la secreción de bicarbonato, la producción de moco y el flujo sanguíneo en el estómago, y está estrechamente relacionado con la infiltración de neutrófilos en la mucosa gástrica, ⁽²³⁾ que se encuentran en el sitio de la lesión, aumentan la concentración de especies reactivas de oxígeno y de otros mediadores inflamatorios que originan estrés oxidativo, el cual es un elemento crítico en el daño de la mucosa gástrica. ⁽²⁴⁾

2.4.2.3 Tabaco

La nicotina es el principal alcaloide del tabaco y juega un papel importante en la patogénesis de las úlceras gástricas, incrementando los factores agresivos y disminuyendo los factores de

protección en la mucosa gástrica. Por otro lado, activa directamente a los receptores nicotínicos (nAChRs) de la célula parietal, incrementando la secreción de ácido, pepsinógeno y vasopresina. Asimismo, estimula la producción de ácido gástrico mediante la activación de los receptores tipo H₂, por la histamina liberada después de la degranulación de los mastocitos cuando fueros activados vía receptores nicotínicos (nAChR α 7). Adicionalmente incrementa los factores vacuolizantes de la toxina liberada por *Helicobacter pylori* en las células gástricas, disminuye los factores protectores de la mucosa gástrica tales como; como el flujo sanguíneo, los niveles de glutatión, prostaglandina E₂,⁽²⁵⁾ además de la secreción del factor de crecimiento epidérmico (EGF), que son necesarios para la renovación de las células de la mucosa gástrica, inhibe la síntesis de óxido nítrico, reduce la angiogénesis y detiene el proceso de renovación celular.⁽²⁶⁾

2.4.2.4 Estrés

Las úlceras generadas por estrés ocurren generalmente en pacientes con eventos estresantes importantes como traumatismo, shock, sepsis, cirugías o quemaduras. Las respuestas derivadas pueden ser psicológicas y fisiológicas. Entre las respuestas fisiológicas, se encuentran la activación neurohormonal e inmunológica, que incluye la liberación del factor liberador de corticotropina, mientras que las respuestas psicológicas incluyen ansiedad, depresión, sensación de impotencia y miedo.⁽²⁷⁾

El estrés induce la hiperactivación del sistema nervioso simpático, provoca una disminución temporal de los factores protectores. Esta disminución se debe al aumento brusco en la secreción de ácido y pepsina, una reducción del flujo sanguíneo y una alteración de la capa de moco-bicarbonato. Las hormonas involucradas en el estrés son la epinefrina y el cortisol. El

exceso de epinefrina induce la contracción de las arteriolas y la activación de los mastocitos, que se acompaña de la liberación de agentes proinflamatorios y vasoconstrictores. Por otra parte, el cortisol con el tiempo suprime la inmunidad, la proliferación de células de la mucosa y la producción de moco, reduciendo el potencial de los factores protectores de la mucosa gástrica e incrementando el riesgo de aparición de pequeñas pero numerosas áreas isquémicas en la mucosa gástrica, llamadas úlceras por estrés, precursoras de las úlceras verdaderas. ⁽²⁸⁾

2.4.2.5 *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori es un bacilo gramnegativo que coloniza la mucosa gastrointestinal y juega un papel importante en el desarrollo de úlceras pépticas y otras enfermedades gastrointestinales. ⁽²⁹⁾

Esta bacteria coloniza la mucosa del estómago, adaptándose al ambiente gástrico y sobreviviendo en él, induciendo una respuesta inflamatoria, que conduce a la pérdida del epitelio, provocando una lesión. Asimismo, modifica la liberación de somatostatina en el antro, lo que conlleva a un aumento en la secreción de gastrina que estimula la producción de ácido clorhídrico en el estómago. ⁽⁸⁾

2.5 Factores protectores

En condiciones normales, el estómago tiene la capacidad de soportar y proteger a la mucosa gástrica del daño provocado por agentes nocivos, a través de mecanismos de defensa. Estos mecanismos se clasifican principalmente en: funcionales, humorales y neuronales. ⁽¹⁷⁾

2.5.1 Factores protectores funcionales

Entre los factores protectores funcionales que protegen la mucosa gástrica, se encuentran, la capa de moco-bicarbonato, microcirculación y disminución en la motilidad gástrica. ⁽¹⁷⁾

2.5.1.1 Capa de moco-bicarbonato

La capa de moco-bicarbonato es una barrera física que proporciona estabilidad y constituye la primera línea de protección para la mucosa gástrica contra el daño provocado por el ácido clorhídrico y la pepsina. ⁽¹⁹⁾ Forma un recubrimiento gelatinoso con una alta concentración de bicarbonato para mantener un pH neutro en dicha capa y retarda la difusión de iones H^+ al epitelio. ⁽¹⁴⁾ La secreción de bicarbonato en la barrera de moco, proporciona un cambio en el gradiente de pH, llevándolo a un valor cercano a la neutralidad en las superficies epiteliales gástricas. ⁽¹⁹⁾

2.5.1.2 Microcirculación

La microcirculación de la mucosa gástrica desempeña un papel importante como factor protector, eliminando el ácido difuso de la mucosa gástrica y facilita el transporte de los factores humorales hacia las células epiteliales, además de transportar nutrientes y oxígeno. ⁽¹⁷⁾

2.5.1.3 Motilidad

Existe evidencia de que la hiperomotilidad gástrica provoca alteraciones microvasculares, especialmente en los pliegues de la mucosa, lo que conlleva a diversos eventos que incluyen la interacción neutrófilo-endotelial. El daño ocasionado se observa principalmente en la parte

superior e inferior de los pliegues de la mucosa, los sitios más influenciados por la compresión de la mucosa debido a la contracción del estómago, donde el flujo sanguíneo de la mucosa es restringido. La inhibición o disminución de la motilidad gástrica ejerce una acción protectora, ya que puede conducir al aplanamiento de los pliegues en la mucosa gástrica, provocando una disminución en los trastornos microvasculares que fueron ocasionados por la hipermotilidad. ⁽³⁰⁾

2.5.2 Factores humorales

Las prostaglandinas y el óxido nítrico son conocidos como factores protectores humorales, debido a que contribuyen en la protección de la mucosa gástrica y son responsables de regular a los factores funcionales. ⁽¹⁷⁾

2.5.2.1 Prostaglandinas

Las prostaglandinas (PG) son sintetizadas a partir del ácido araquidónico por acción de las dos isoformas de ciclooxigenasa. Las prostaglandinas E_2 desempeñan un papel muy importante en el mantenimiento de la integridad de la mucosa gástrica y de diversas funciones del tracto gastrointestinal, protegiéndolo de diversos factores ulcerogénicos como el estrés, alcohol y AINE's. Sus efectos protectores son estimulados a través de los diferentes subtipos de receptores EP acoplados a proteína G (EP₁-EP₄); la activación de los EP₁ desencadena la producción de HCO_3^- y disminuye la motilidad, los EP₂ aumentan el flujo sanguíneo, los EP₃ disminuyen la secreción de HCl y los EP₄ aceleran la producción de moco, el flujo sanguíneo y la cicatrización. ⁽³⁰⁾

2.5.2.2 Óxido nítrico

El óxido nítrico es sintetizado a partir del aminoácido L-arginina por la enzima sintasa de óxido nítrico, actúa como vasodilatador manteniendo la integridad de la mucosa gástrica, regulando la secreción de moco, motilidad y microcirculación. ⁽¹⁷⁾ También tiene la capacidad de activar la COX-1 y de esta manera participa en la biosíntesis de prostaglandinas. ⁽³¹⁾

2.5.3 Factores neuronales (neuronas sensibles a capsaicina)

Las neuronas sensibles a capsaicina protegen a la mucosa gástrica contra factores dañinos, a través de la interacción con los receptores vanilloide tipo 1 (TRPV1), un canal catiónico no selectivo que provoca la liberación de neuropéptidos como la sustancia P y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina ⁽³²⁾ los cuales participan en la regulación del flujo sanguíneo gástrico provocando una vasorelajación. ⁽¹⁷⁾

2.5.4 Otros factores protectores

Los grupos sulfhidrilos no proteicos como el glutatión protegen a la mucosa gástrica, participando en la producción de moco y uniéndose a los radicales libres para evitar su acción nociva. ⁽³³⁾ De esta manera, el glutatión protege la mucosa gástrica ayudando a mantener su estructura. ⁽⁵⁾

2.6 Tratamiento farmacológico contra las úlceras pépticas

El tratamiento farmacológico para curar las úlceras pépticas se basa generalmente en la inhibición de la secreción de ácido. ⁽³⁴⁾ Estos se clasifican de acuerdo a su mecanismo de

acción en; neutralizantes de la secreción ácida, protectores de la mucosa e inhibidores de la secreción ácida. ⁽³⁵⁾

2.6.1 Antiácidos

Los antiácidos son sustancias que neutralizan el ácido clorhídrico en el jugo gástrico ⁽³⁶⁾ y se clasifican de acuerdo con el grado de absorción gastrointestinal, en; absorbibles y no absorbibles. ⁽³⁵⁾

2.6.1.1 Antiácidos absorbibles

Los antiácidos que contienen bases absorbibles como el bicarbonato de sodio y el carbonato de calcio, neutralizan el ácido del estómago. Estos fármacos son muy hidrosolubles y se absorben rápidamente en el estómago, su efecto es de corta duración y entre sus efectos adversos, se han reportado; litiasis renal y alcalosis metabólica grave. ⁽³⁶⁾

2.6.1.2 Antiácidos no absorbibles

Los hidróxidos de magnesio y aluminio son antiácidos no absorbibles y tienen diferentes tiempos de acción, por ello se utilizan en combinaciones. El hidróxido de magnesio reacciona rápidamente, mientras que el de aluminio es de acción lenta. Los efectos adversos que produce el Al^{3+} es que relaja el músculo liso del estómago y puede producir retraso en el vaciamiento gástrico y estreñimiento, en tanto que el Mg^{2+} tiene los efectos opuestos.

El magaldrato es un complejo de hidroximagnesio de aluminato que se convierte rápidamente con el ácido gástrico en $Mg(OH)_2$ y $Al(OH)_3$, los cuales proporcionan un efecto antiácido sostenido. ⁽³⁶⁾

2.6.2 Citoprotectores

Los fármacos denominados citoprotectores estimulan los mecanismos protectores de la mucosa o forman una barrera física en la superficie de la úlcera. ⁽³⁷⁾ Entre los principales se encuentran; sales de bismuto, sucralfato, análogos de las prostaglandinas y carbenoxolona.

⁽³⁶⁾

2.6.2.1 Sales de bismuto

Las sales de bismuto como el dicitrato tripotásico de bismuto, son sustancias que en agua forman una disolución coloidal y en presencia del medio ácido del estómago quelan a los aminoácidos y a las glucoproteínas de la lesión con gran afinidad, formando un coágulo blanquecino que se une a la superficie de la lesión formando una barrera protectora que evita el daño provocado por los diferentes agentes agresores. Además, tienen la capacidad de incrementar la síntesis de prostaglandinas y promover la producción de moco y bicarbonato.

⁽³⁵⁾ Los efectos adversos consisten en náuseas, vómitos y coloración negruzca en la lengua y las heces. ⁽³⁷⁾

2.6.2.2 Sucralfato

El sucralfato es un complejo de hidróxido de aluminio y sacarosa sulfatada que libera aluminio en presencia de ácido. La molécula formada adquiere una fuerte carga negativa y se une a grupos catiónicos de proteínas y glucoproteínas alrededor de las úlceras que tienen carga positiva, formando una barrera protectora sobre la zona lesionada. Tiene la capacidad de incrementar factores defensivos como el óxido nítrico y las prostaglandinas. En cuanto a

efectos adversos, entre los más comunes se encuentran; estreñimiento, náuseas, vómitos y cefaleas. ^(35, 37)

2.6.2.3 Análogos de las prostaglandinas

El misoprostol es un análogo estable de la PGE₁ que se absorbe con rapidez en el estómago, el cual favorece la cicatrización de las úlceras gástricas y evita el daño ocasionado por el consumo crónico de AINE's, inhibiendo la secreción basal de ácido gástrico e incrementando la secreción de moco y bicarbonato. Los efectos adversos incluyen diarreas, calambres abdominales y contracción uterina, con posibilidad de abortos. ^(35, 37)

2.6.2.4 Carbenoxolona

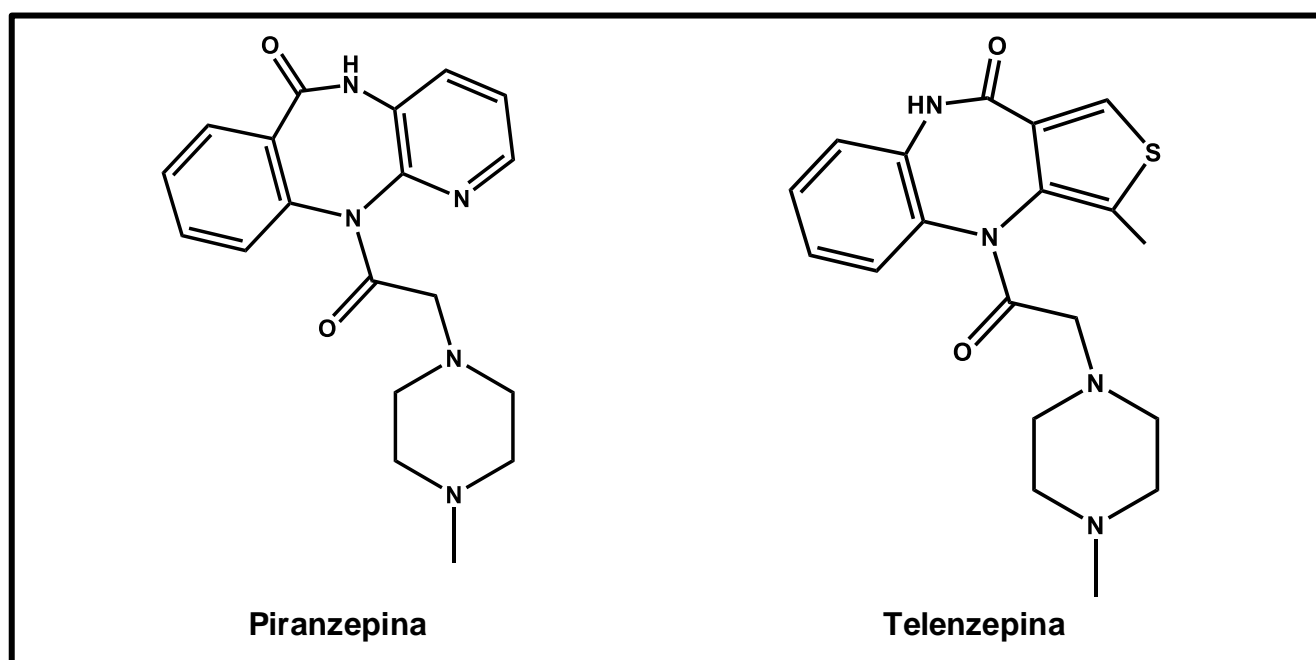
La carbenoxolona es un derivado del ácido glicirrízico, un compuesto obtenido a partir de *Glycyrrhiza glabra*. Su mecanismo de acción no está completamente claro, ⁽³⁸⁾ no obstante, se sabe que induce un incremento en el pH duodenal; por el aumento en la secreción de bicarbonato. ⁽³⁹⁾ En consecuencia, provoca alteraciones en los niveles de potasio, retención de líquidos e hipertensión. ⁽³⁶⁾

2.6.3 Antisecretores

Los fármacos antisecretores reducen la secreción de ácido gástrico, alivian el dolor, favorecen la cicatrización e inhiben la proliferación de *H. pylori*. Dentro de este grupo de fármacos se encuentran; los antagonistas muscarínicos de los receptores M₃, los antagonistas de los receptores H₂ y los inhibidores de la bomba de H⁺/K⁺. ⁽⁹⁾

2.6.3.1 Antagonistas muscarínicos

Los antagonistas muscarínicos como la piranzepina y telenzepina inhiben la secreción de ácido y pepsina al inhibir la secreción gástrica estimulada por acetilcolina mediante el bloqueo de los receptores muscarínicos de tipo M₃. Asimismo, reducen el dolor al disminuir la motilidad gástrica. Los efectos secundarios incluyen boca seca, visión borrosa y estreñimiento. Estos efectos secundarios junto con su inhibición incompleta de la secreción de ácido gástrico limitan su utilidad clínica. ⁽³⁸⁾

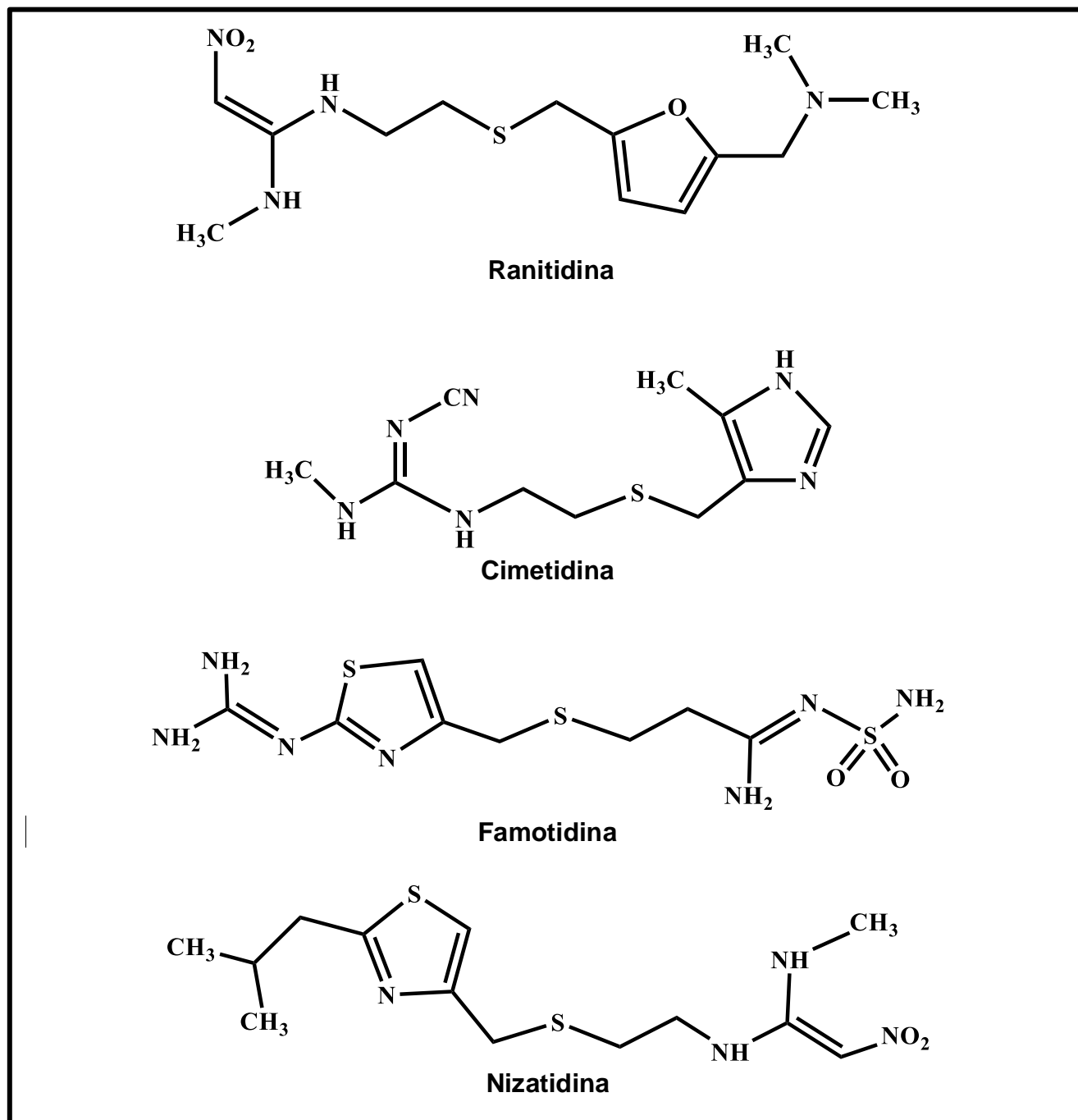


Cuadro 1. Estructuras de fármacos antagonistas muscarínicos

2.6.3.2 Antagonistas de los receptores H₂

Este grupo de fármacos inhibe la producción de ácido por la unión reversible a los receptores de histamina tipo H₂ de la célula parietal. Entre ellos se encuentran; ranitidina, cimetidina, famotidina y nizatidina. Sin embargo, en la actualidad son considerados fármacos de segunda elección, debido a que no logran niveles sostenidos de pH intragástrico superiores a 4, y han

sido sobrepasados por los inhibidores de la bomba de protones por su mayor eficacia antisecretora. ⁽³⁵⁾ El consumo prolongado de este tipo de fármacos, reporta como principales reacciones adversas; mareos náuseas, erupciones en la piel, somnolencia, galactorrea, ginecomastia en varones, disminución en la cuenta de espermatozoides e impotencia en los hombres. ⁽³⁸⁾



Cuadro 2. Estructuras de fármacos antagonistas de los receptores H₂

2.6.3.3 Inhibidores de la bomba H⁺/K⁺ -ATPasa

Los inhibidores de la bomba H⁺/K⁺ -ATPasa como: el omeprazol, lanzoprazol, pantoprazol y esomeprazol, actúan sobre el eslabón final del proceso de secreción ácida gástrica.

Los inhibidores de la bomba H⁺/K⁺ -ATPasa son profármacos, cuya forma protonada, en medio ácido se convierte en un compuesto tetracíclico activo (sulfonamida), que forma rápidamente enlaces covalentes mediante uniones disulfuro, con residuos de cisteína 813 de la subunidad α de la bomba H⁺/K⁺ -ATPasa localizada en la interfase entre el citoplasma y el canalículo secretor. ⁽³⁵⁾ Estos tipos de fármacos son los más utilizados debido a su eficacia. Sin embargo, el uso prolongado provoca efectos adversos en el organismo, siendo los más importantes, la disminución en la absorción de vitamina B₁₂, la cual puede conducir a demencia y daño neurológico irreversible, hipergastrinemia, cáncer gástrico ⁽⁴⁰⁾ y cáncer de páncreas. ⁽⁴¹⁾

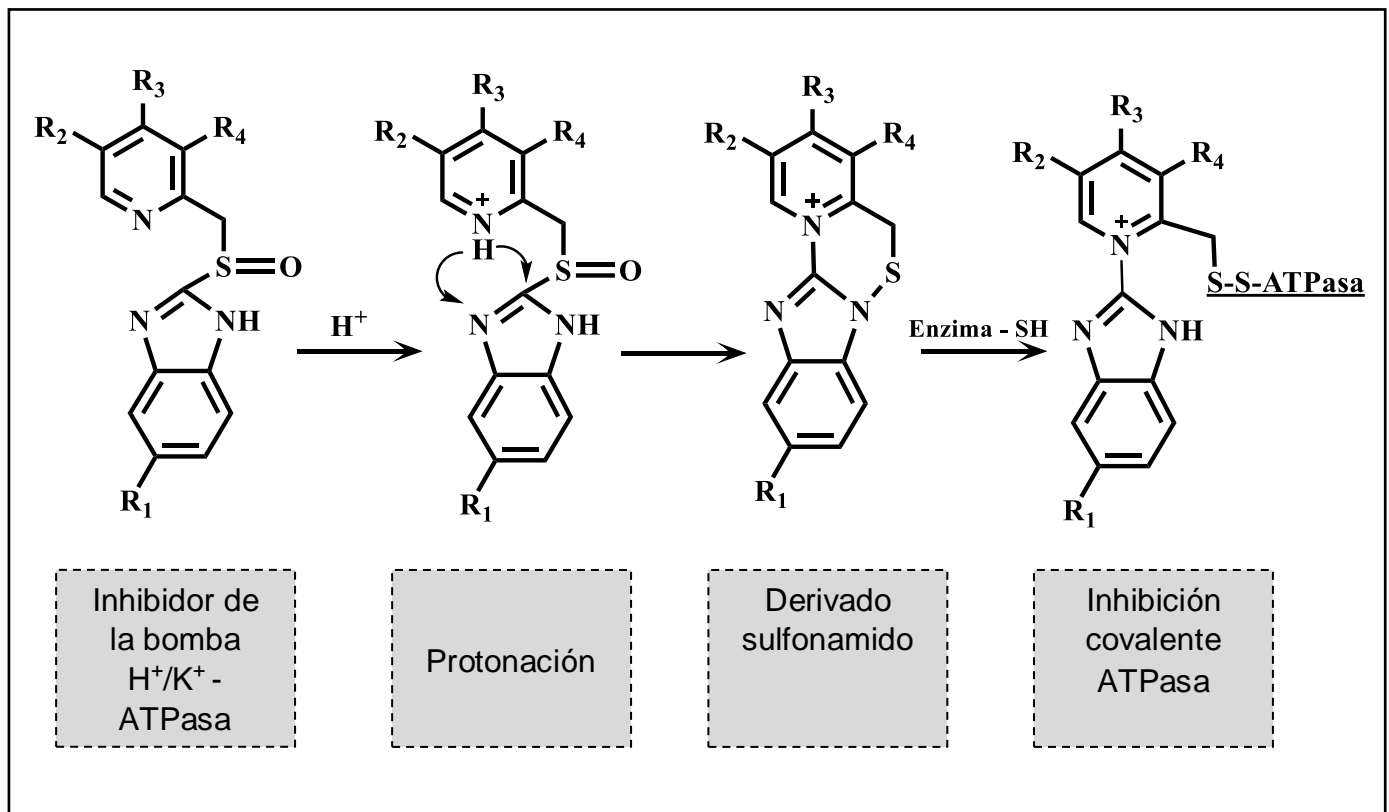
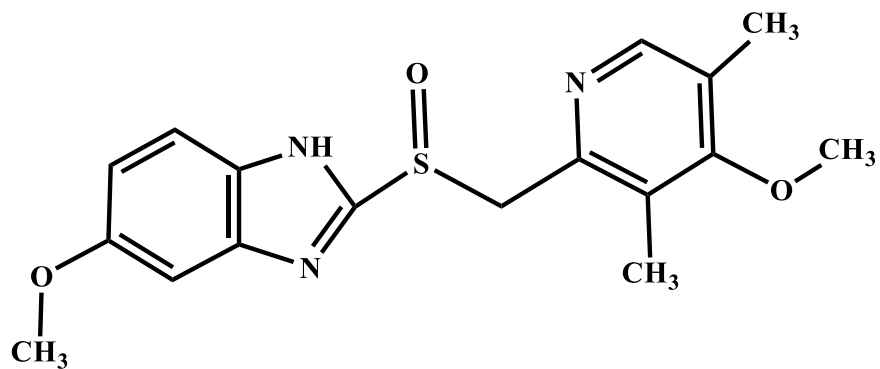
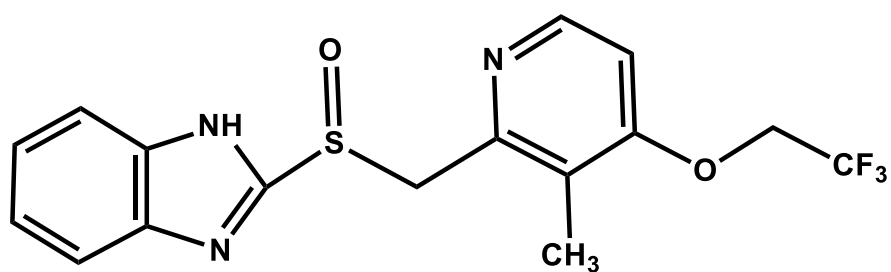


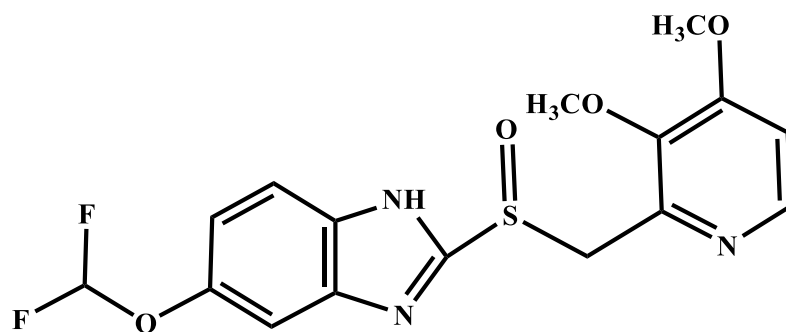
Figura 1. Conversión de fármacos Inhibidores de la bomba H⁺/K⁺ -ATPasa en sulfonamidas



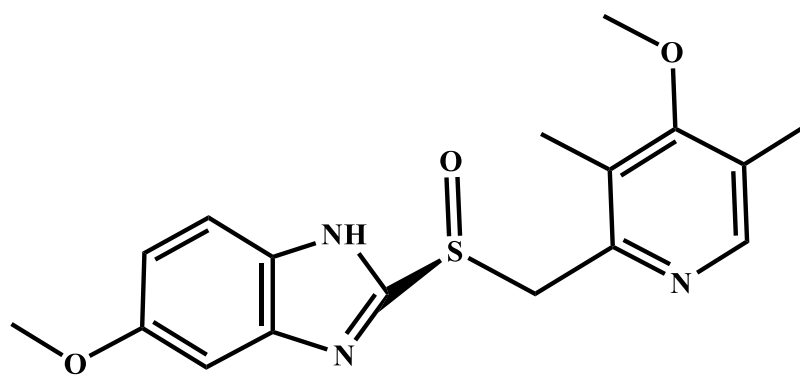
Omeprazol



Lanzoprazol



Pantoprazol



Esomeprazol

2.7 Tratamientos alternativos

Desde la antigüedad la naturaleza proporciona varios fitoquímicos a base de plantas medicinales para el beneficio de la salud. Las plantas medicinales representan una alternativa para tratar las úlceras pépticas y son una fuente muy importante para el descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos. Es por eso que se ha llevado a cabo el aislamiento de algunos metabolitos activos derivados de plantas empleadas en la medicina tradicional por conocimiento empírico. ⁽⁴²⁾ Algunas especies de plantas a las que se les ha demostrado actividad gastroprotectora son; *Solanun cernuum*, ⁽¹⁰⁾ *Solanum variable*, ⁽⁴³⁾ *Rhus tripastita*, ⁽⁴⁴⁾ *Vernonia condensata* ⁽⁴⁰⁾ y *Pistacia lentiscus*, ⁽²³⁾ entre otras.

En este sentido, *Calea urticifolia* es una planta cuyo origen se extiende de México hasta Panamá y que es conocida por sus nombres comunes como hierba del negro, chilchaca y jaral de castilla, la cual es utilizada en la medicina tradicional de algunas regiones de los estados de Chiapas, Veracruz, Oaxaca y San Luis Potosí. ⁽⁵³⁾ Y se le ha demostrado que posee actividad antibacteriana, antimicótica y antiulcerosa. En estudios previos se han aislados compuestos activos, conocidos como lactonas sesquiterpénicas con un esqueleto de germacrano. Estos compuestos son característicos y predominantes en las especies de la familia Asteraceae, a la cual pertenece *Calea urticifolia*.

2.8 Lactonas sesquiterpénicas

Las lactonas sesquiterpénicas son metabolitos secundarios que se encuentran en numerosas especies de plantas. El interés en estas moléculas se deriva de las múltiples actividades biológicas que presentan, las cuales se deban probablemente a un ataque nucleofílico de determinados centros activos de las proteínas al doble enlace a través de una adición de

Michael. ⁽⁵⁴⁾ Las lactonas sesquiterpénicas aisladas de *Calea urticifolia* han mostrado diferentes actividades biológicas tales como: la inhibición de la biosíntesis de melanina en células de melanoma B16 de ratón, inducción de apoptosis en células HL60, efecto antioxidante en células de feocromocitoma PC11; además de la actividad supresora contra la diferenciación de adipocitos y efecto antiinflamatorio. ⁽⁵³⁾ Adicionalmente se ha reportado la actividad gastroprotectora, que se ha atribuido a las lactonas sesquiterpénicas que se han aislado de *Calea urticifolia*; algunas de ellas son; 2-3-epoxijuanislamin, ⁽⁶⁾ calealactona B ⁽³⁾ y caleína D ⁽⁵⁾ y recientemente se ha aislado a juanislamin, ⁽⁷⁾ otra lactona sesquiterpénica, con la cual se desarrolla este trabajo.

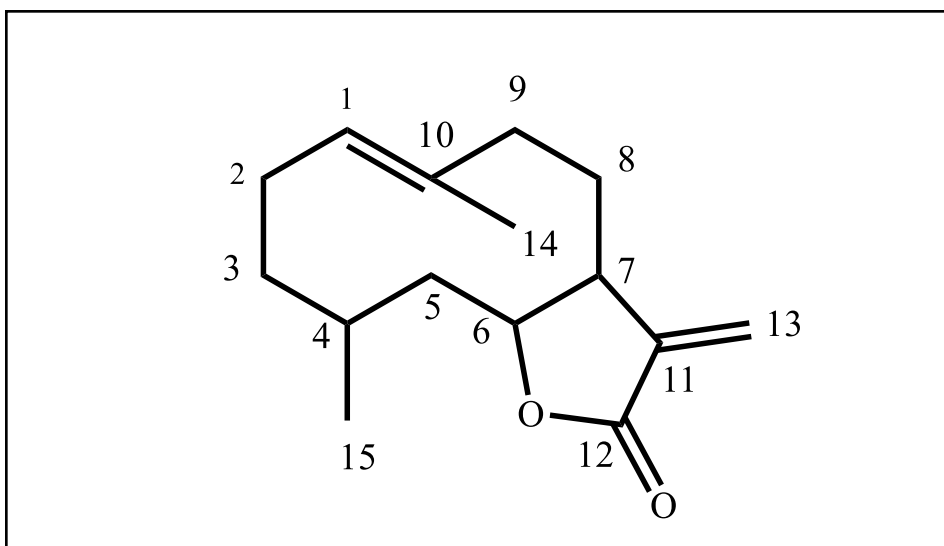
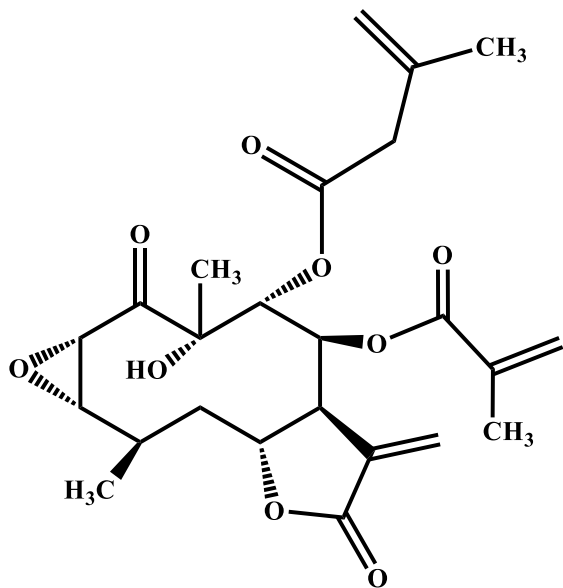
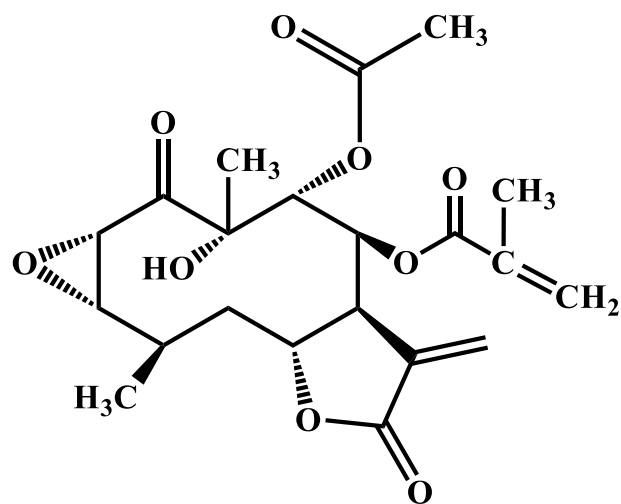


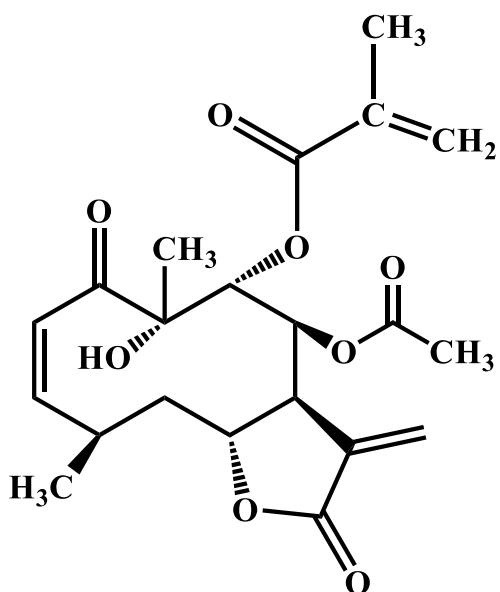
Figura 2. Estructura base de lactonas sesquiterpénicas con esqueleto de germacrano



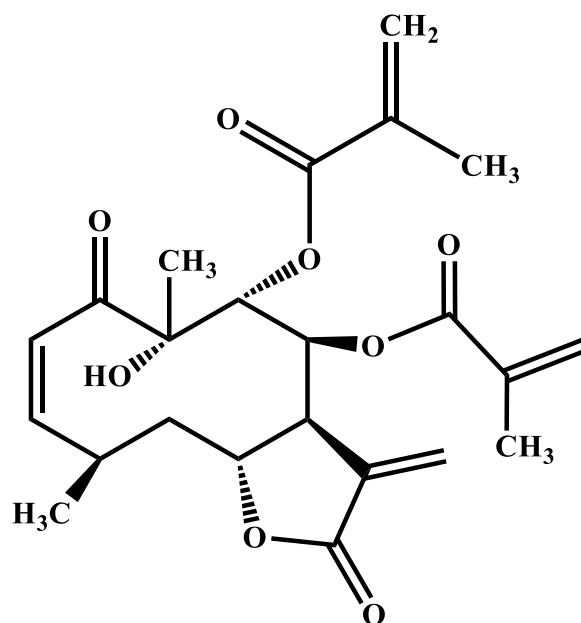
2-3-epoxijuanislamin



Calealactona B



Caleina D



Juanislamin

Cuadro 4. Estructuras de lactonas sesquiterpénicas

2.9 Juanislamin

Juanislamin es una lactona sesquiterpénica aislada de *Calea urticifolia*, identificada por primera vez en el Salvador en 1981. Se describe como un polvo de color blanco con un peso molecular de 432 g/mol. ⁽⁵⁵⁾

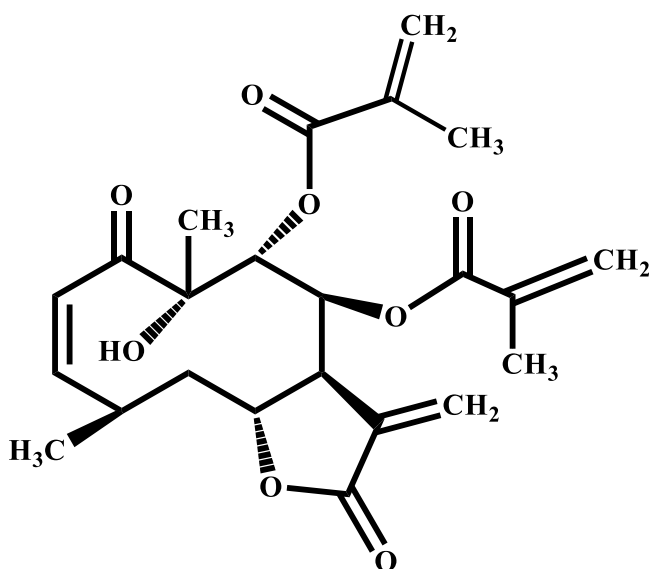


Figura 3. Estructura de Juanislamin

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las úlceras pépticas son uno de los padecimientos gastrointestinales de mayor prevalencia a nivel mundial ⁽¹⁰⁾ y en nuestro país ocupa el cuarto lugar en casos de morbilidad. ⁽⁴⁾ A pesar de que existen medicamentos para tratar esta enfermedad, actualmente no se cuenta con un tratamiento ideal que alivie el dolor, elimine los síntomas, alivie el grado de ulceración y retrase el periodo de recurrencia con mínimos efectos adversos. Es por ello que la población recurre a tratamientos alternativos como el uso de plantas medicinales, las cuales son una fuente importante para la obtención de nuevos fármacos. Al respecto, *Calea urticifolia* es una planta de la cual ya se han aislado algunas lactonas sesquiterpénicas con un esqueleto de germacrano, las cuales han presentado actividad gastroprotectora en el modelo de lesiones gástricas inducidas con etanol, siendo una de ellas juanislamin. Por lo que la finalidad del presente estudio es determinar la actividad gastroprotectora de dicha lactona en el modelo de lesiones producidas por indometacina, así como determinar si tiene actividad antsecretora en el modelo de ligadura del píloro.

4. HIPÓTESIS

Juanislamin posee actividad gastroprotectora contra el daño inducido con etanol, por lo que protegerá contra el daño inducido por indometacina y al no estar involucrados las prostaglandinas, el óxido nítrico y los grupos sulfhidrilos en su mecanismo de acción, presentará actividad antisecretora.

5. OBJETIVO

Determinar la actividad gastroprotectora de juanislamin, en el modelo de lesiones gástricas inducidas por indometacina y su actividad antisecretora utilizando el modelo de ligadura de píloro.

6. METODOLOGÍA

6.1 Animales

Se utilizaron ratas Wistar macho con un peso promedio de 180 a 220 g, las cuales fueron adquiridas del Bioterio de la Universidad Autónoma Metropolitana, Campus Xochimilco, Ciudad de México. Todas las evaluaciones se realizaron en conformidad con la Norma Oficial Mexicana para el cuidado y Manejo de Animales de Laboratorio (NOM-062-ZOO-1999). Los animales se colocaron en cajas individuales de acero inoxidable con piso de malla de alambre para evitar la coprofagia y se colocaron en condiciones de ayuno durante un periodo de 18 a 24 horas antes de cada evaluación, pero con libre acceso a agua. Se utilizaron de 7 u 8 animales por grupo.

6.2 Fármacos

Carbenoxolona, indometacina, histamina, betanecol, pentagastrina, ranitidina, atropina, proglumida, omeprazol, se adquirieron de Sigma Aldrich. Todas las soluciones se prepararon minutos antes de la evaluación.

6.3 Obtención de los extractos de *Calea urticifolia*

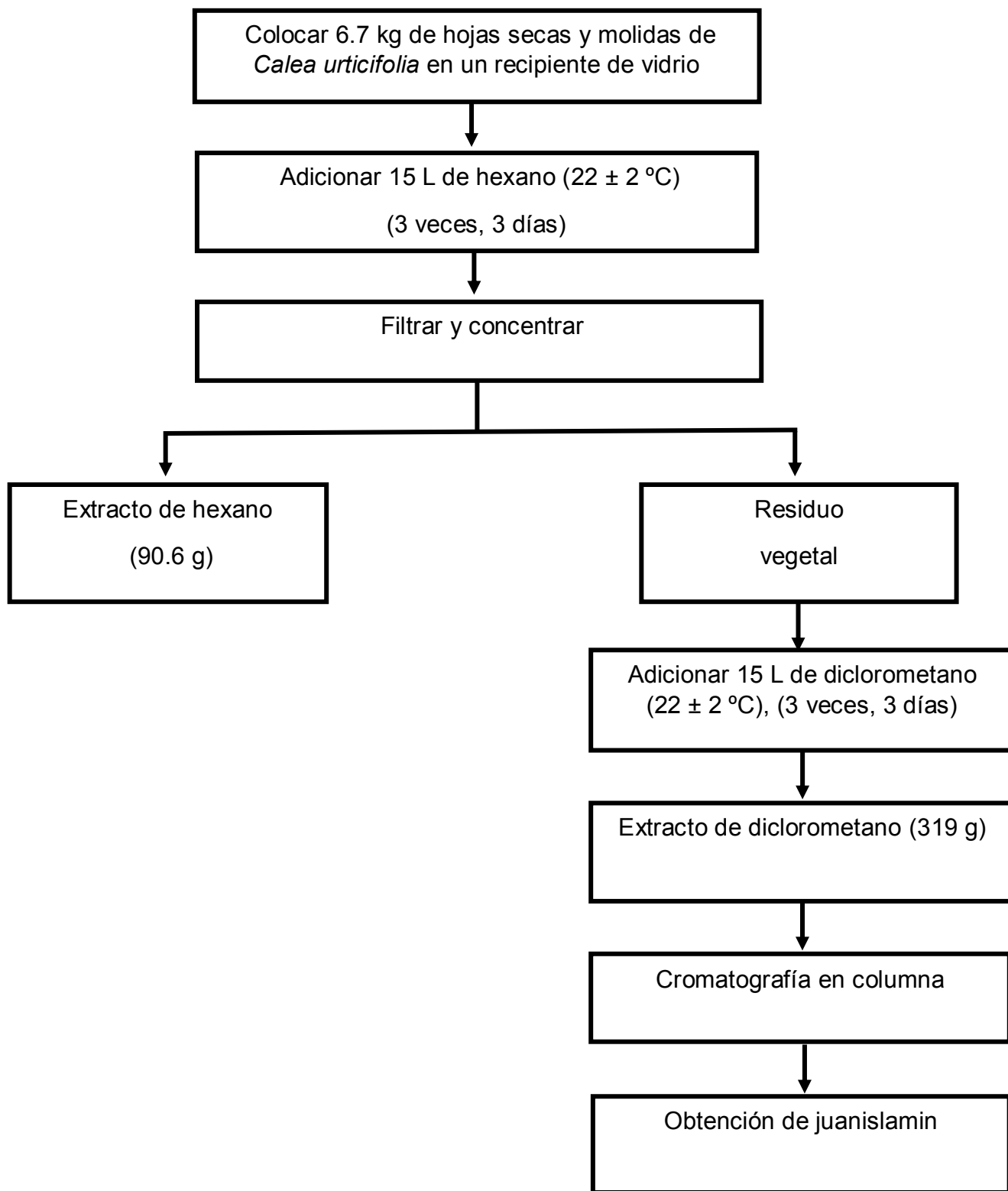
Se colocaron 6.7 kg de hojas previamente secas y molidas de *Calea urticifolia* en un recipiente de vidrio y se extrajeron mediante el proceso de maceración. Para ello se adicionaron 15 litros de hexano al recipiente que contenía las hojas, se tapó perfectamente y permaneció en contacto con el disolvente durante tres días a temperatura ambiente ($22 \pm 2^\circ\text{C}$). Transcurrido este tiempo el disolvente se filtró y se evaporó con ayuda de un rotaevaporador a presión reducida. Esta operación se repitió dos veces más para obtener el extracto hexánico. Al

residuo vegetal de la operación anterior se le adicionaron 15 litros de diclorometano siguiendo la misma metodología antes descrita para obtener el extracto de diclorometano. Los extractos obtenidos se identificaron como “extracto hexánico” y “extracto de diclorometano”, respectivamente.

6.4 Aislamiento de juanislamin

Se sometieron a una separación mediante cromatografía en columna de gel de sílice (640 g), 310 g de extracto de diclorometano, con un volumen de cambio de 1800 mL. La cual se eluyó incrementando la polaridad, comenzando con 100% de hexano y posteriormente con mezclas de hexano-diclorometano, en diferentes proporciones (9:1, 8:2, 7:3, 6:4 y 5:5) respectivamente. Se obtuvo un total de 397 fracciones. De la fracción 285 a la 396, se encontró la presencia de juanislamin; la cual fue observada mediante cromatografía en placa fina con una muestra auténtica de referencia. Se obtuvieron cristales de color verde negruzco que fueron lavados con éter de petróleo para su purificación. Después de la purificación se obtuvieron 2 g de un polvo cristalino de color blanquecino a ligeramente amarillo.

Esquema 1. Aislamiento de juanislamin



6.5 Modelo de lesiones gástricas inducidas con indometacina

Las lesiones gástricas se indujeron mediante la administración de indometacina a una dosis de 40 mg/kg, suspendida en carboximetilcelulosa al 0.5% con 10% de etanol. ⁽⁴⁵⁾ Posteriormente se administraron de manera independiente las siguientes soluciones por vía oral: (0.5 mL/100 g) el vehículo (solución de Tween 80 al 0.05%), juanislamin (suspendida en Tween 80 al 0.05%) a 3, 10 y 30 mg/Kg, y carbenoxolona disuelta en agua (fármaco de referencia), a 3, 10, 30 y 100 mg/Kg. Una hora después a todos los animales se les administró indometacina (0.5 mL/100 g, v.o). Cuatro horas después los animales se sacrificaron en una cámara de CO₂ y de forma inmediata se llevó a cabo la disección de los estómagos, los cuales se llenaron con 10 mL de formaldehído al 2 % y se colocaron en un recipiente que contenía la misma solución durante 5 minutos. Transcurrido este tiempo, los estómagos fueron abiertos a lo largo de la curvatura mayor y el área dañada fue medida bajo un microscopio estereoscópico (x 10), provisto de un micrómetro ocular. El índice de úlcera (mm²) fue calculado como la suma total de todas las lesiones del estómago de cada animal. El porcentaje de gastroprotección (% GP) se calculó utilizando la siguiente fórmula:

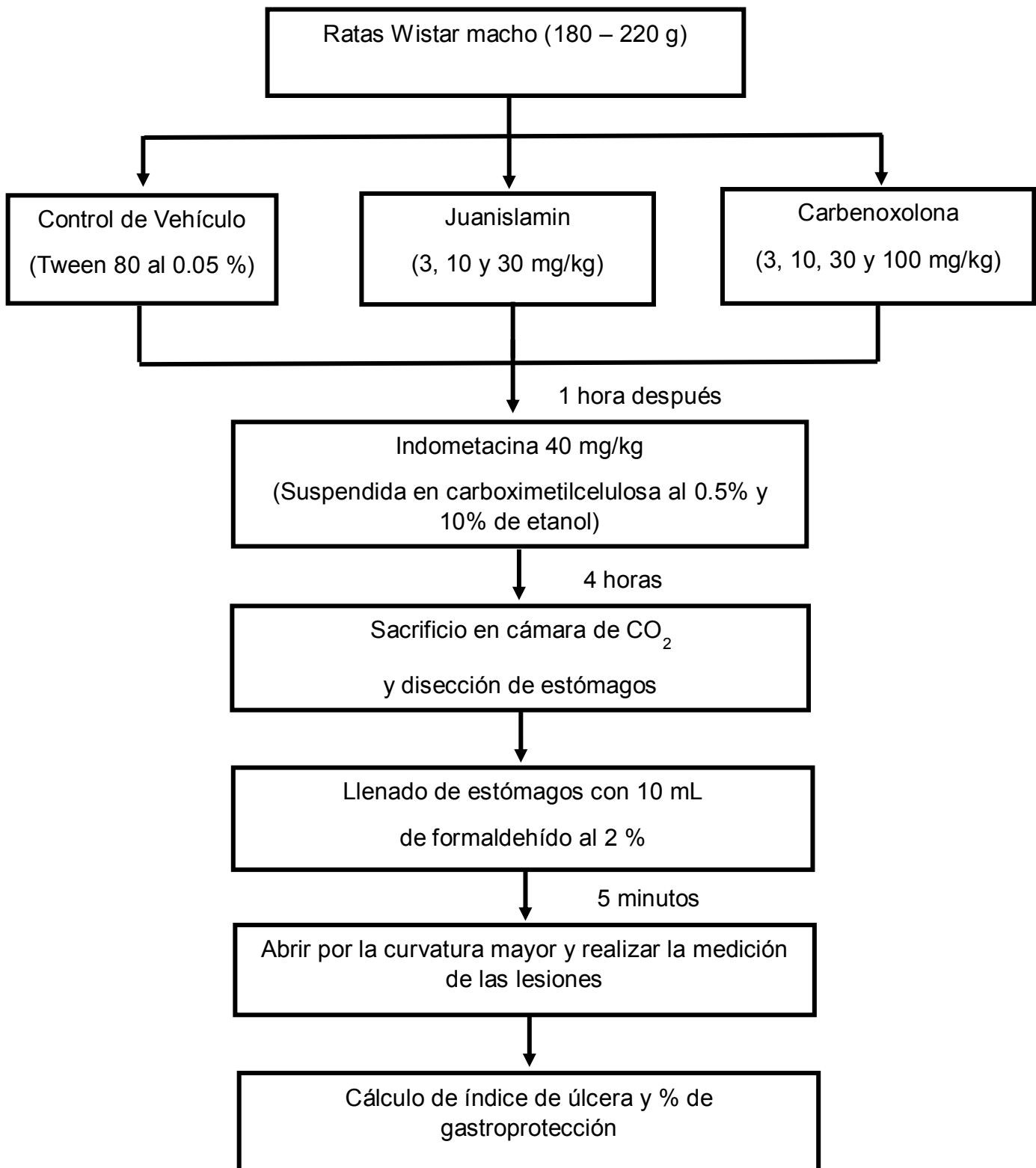
$$\% GP = \frac{(IUC - IUT)}{IUC} (100)$$

Donde:

IUC= índice de úlcera del grupo control.

IUT= índice de úlcera de cada grupo tratado.

Esquema 2. Modelo de lesiones gástricas inducidas con indometacina



6.6 Actividad antisecretora de juanislamin

La actividad antisecretora se determinó utilizando el método de la ligadura del píloro descrito por Shay. ⁽¹⁰⁾ Los animales fueron anestesiados con una mezcla de xilacina (45 mg/kg) y ketamina (12 mg/kg) administrada vía intraperitoneal y de forma inmediata se realizó una incisión debajo del diafragma del lado izquierdo para exponer el estómago y así ligar el píloro. Una vez realizada la ligadura se suturó el músculo y la piel, e inmediatamente se administró por vía oral (0.5 mL/100 g) y de manera independiente, el vehículo (Tween 80 al 0.05%), juanislamin (10 mg/kg) y omeprazol a 30 mg/kg (fármaco de referencia). Cuatro horas después los animales fueron sacrificados e inmediatamente se realizó la disección de los estómagos. La secreción gástrica de cada animal fue colectada y centrifugada a 10 000 rpm durante 10 minutos para determinar el pH y medir el volumen total.

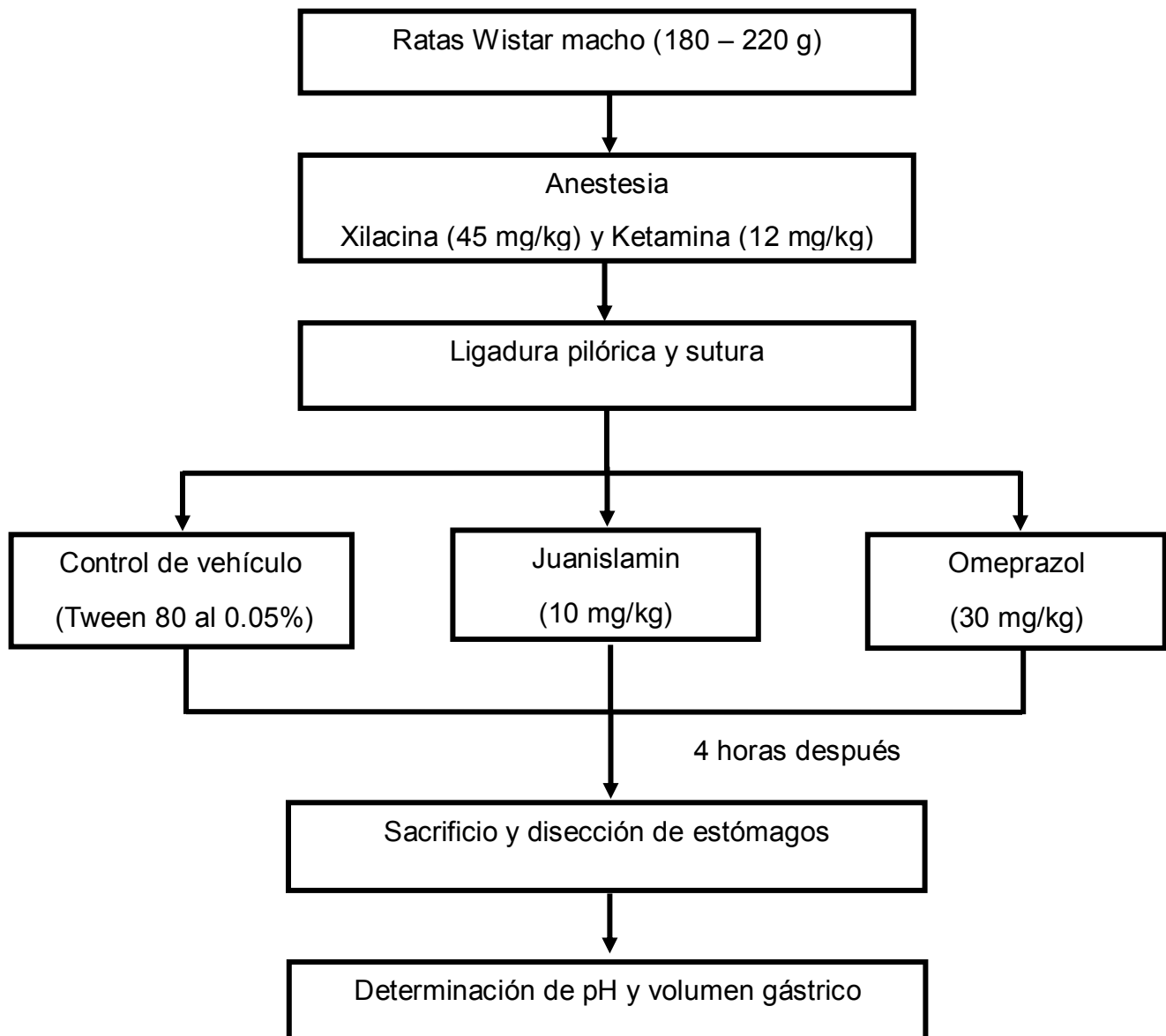
6.7 Participación de los receptores M₃ de acetilcolina, CCK₂ de gastrina y H₂ de histamina en el mecanismo de acción de juanislamin

Para investigar la participación de los receptores M₃, H₂ o CCK₂ en el mecanismo de acción de juanislamin, los animales fueron divididos en grupos independientes para ser tratados según corresponda a continuación:

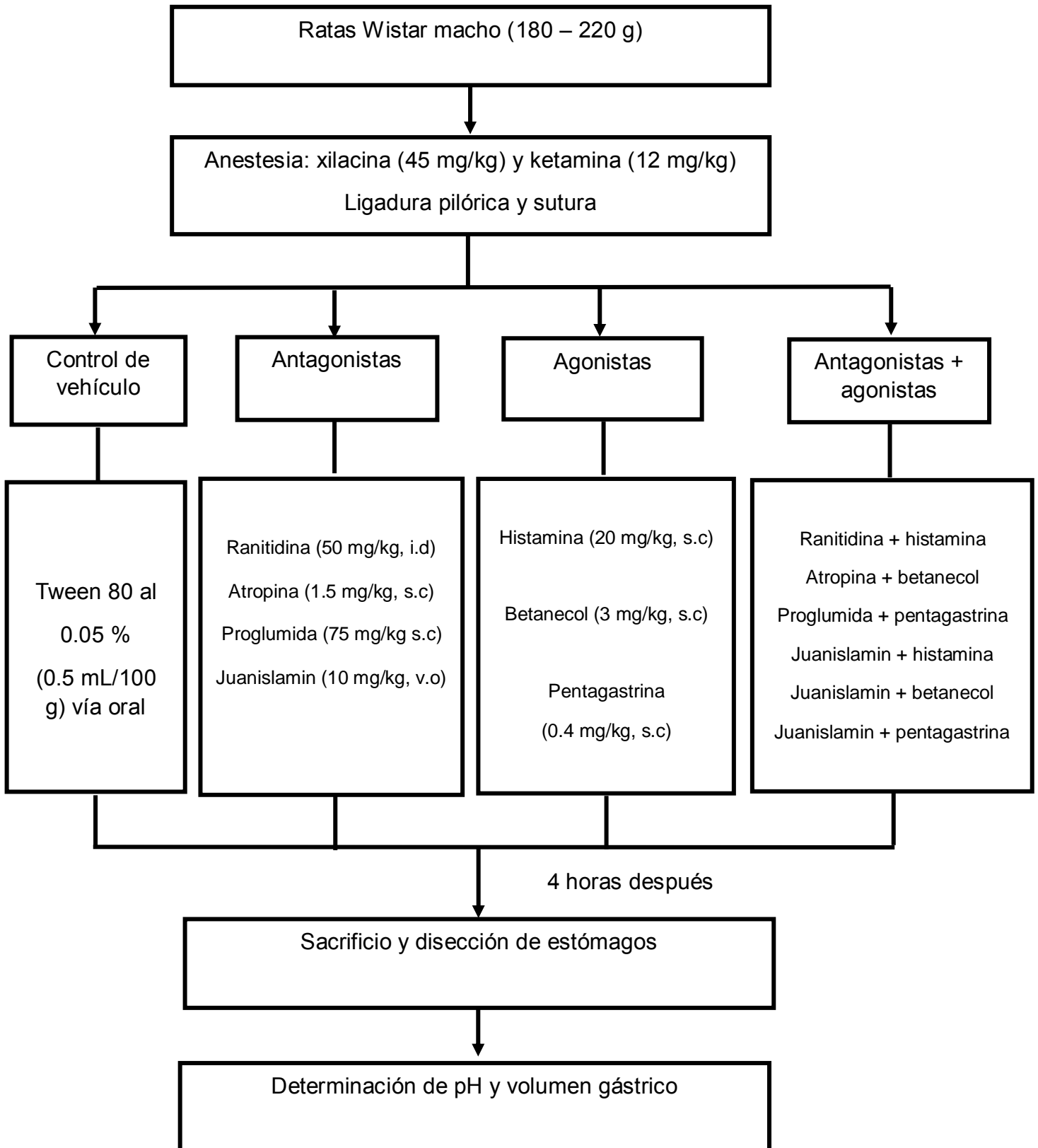
Grupos: 1) Control de vehículo. 2) ranitidina (antagonista de los receptores H₂), 3) atropina (antagonista de los receptores muscarínicos M₃), 4) proglumida (antagonista de los receptores CCK₂), 5) juanislamin, 6) histamina (agonista de receptores H₂), 7) betanecol (agonista de receptores M₃), 8) pentagastrina (agonista de los receptores CCK₂), 9) ranitidina + histamina, 10) juanislamin + histamina, 11) atropina + betanecol, 12) juanislamin + betanecol, 13) proglumida + pentagastrina y 14) juanislamin + pentagastrina.

Después de la ligadura del píloro al grupo 1 se le administró una solución de Tween 80 al 0.05% (0.5 mL/100 g) vía oral, a los grupos 2, 3, 4 y 5 se le administraron los diferentes antagonistas según correspondan; 2) ranitidina (50 mg/kg, intraduodenal), 3) atropina (1.5 mg/kg, subcutánea), 4) proglumida (75 mg/kg, subcutánea) y 5) juanislamin (10 mg/kg, oral). Los grupos 6, 7 y 8 recibieron por vía subcutánea los diferentes agonistas: 6) histamina (20 mg/kg), 7) betanecol (3 mg/kg) y 8) pentagastrina (0.4 mg/kg). Cuatro horas después los animales fueron sacrificados e inmediatamente se realizó la disección de los estómagos. La secreción gástrica de cada animal fue colectada y centrifugada a 10 000 rpm durante 10 minutos, para medir el pH y el volumen total. Finalmente, a los grupos 9, 10, 11, 12, 13, 14 recibieron una combinación de fármacos antagonistas y agonistas; a los cuales se les administró primeramente los diferentes antagonistas (ranitidina, atropina, proglumida o juanislamin), 1 hora después, se les administró su correspondiente agonista: histamina, betanecol o pentagastrina. Cuatro horas después, los animales se sacrificarán para poder medir el volumen (mL) y determinar el pH.

Esquema 3. Actividad antisecretora de juanislamin



Esquema 4. Participación de los receptores M₃ de acetilcolina, CCK₂ de gastrina y H₂ de histamina en el mecanismo de acción de juanislamin



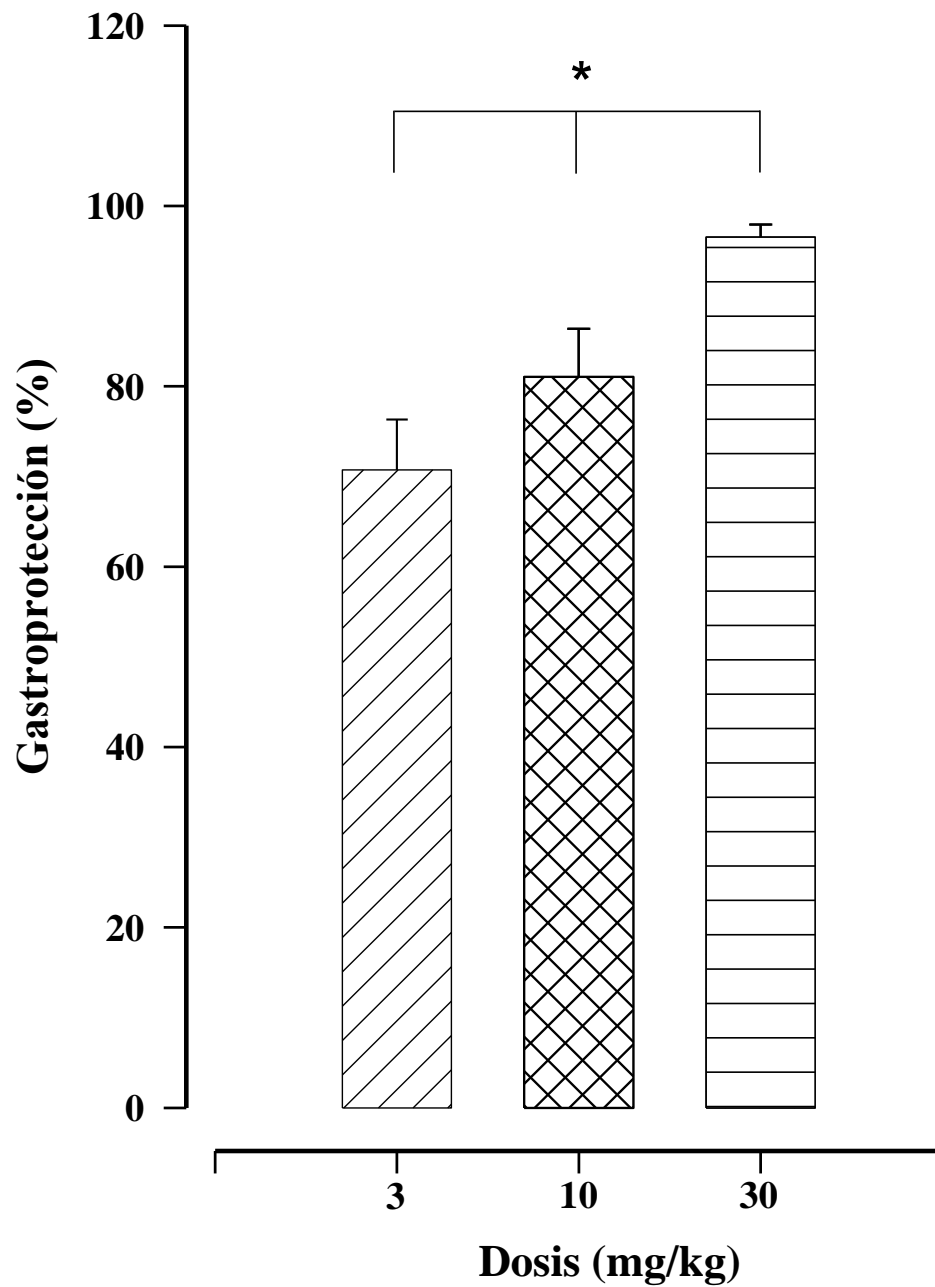
6.8 Análisis estadístico

Todos los resultados se presentan como el promedio \pm el error estándar de la media (E.E.M) de 7-8 animales por grupo. Para la evaluación de la actividad gastroprotectora, las diferencias entre los tratamientos fueron analizadas mediante la prueba de Kruskal-Wallis seguida por la prueba de múltiples comparaciones de Dunn, tomando como diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$). En cuanto a la actividad antisecretora, para el tratamiento de los resultados de pH se realizó la prueba de Kruskal-Wallis, seguida de la prueba de Dunn y para la evaluación del volumen gástrico un análisis de varianza (ANOVA), seguida de la prueba de Dunnett. En ambos casos se consideraron como diferencias estadísticamente significativas cuando $p \leq 0.05$.

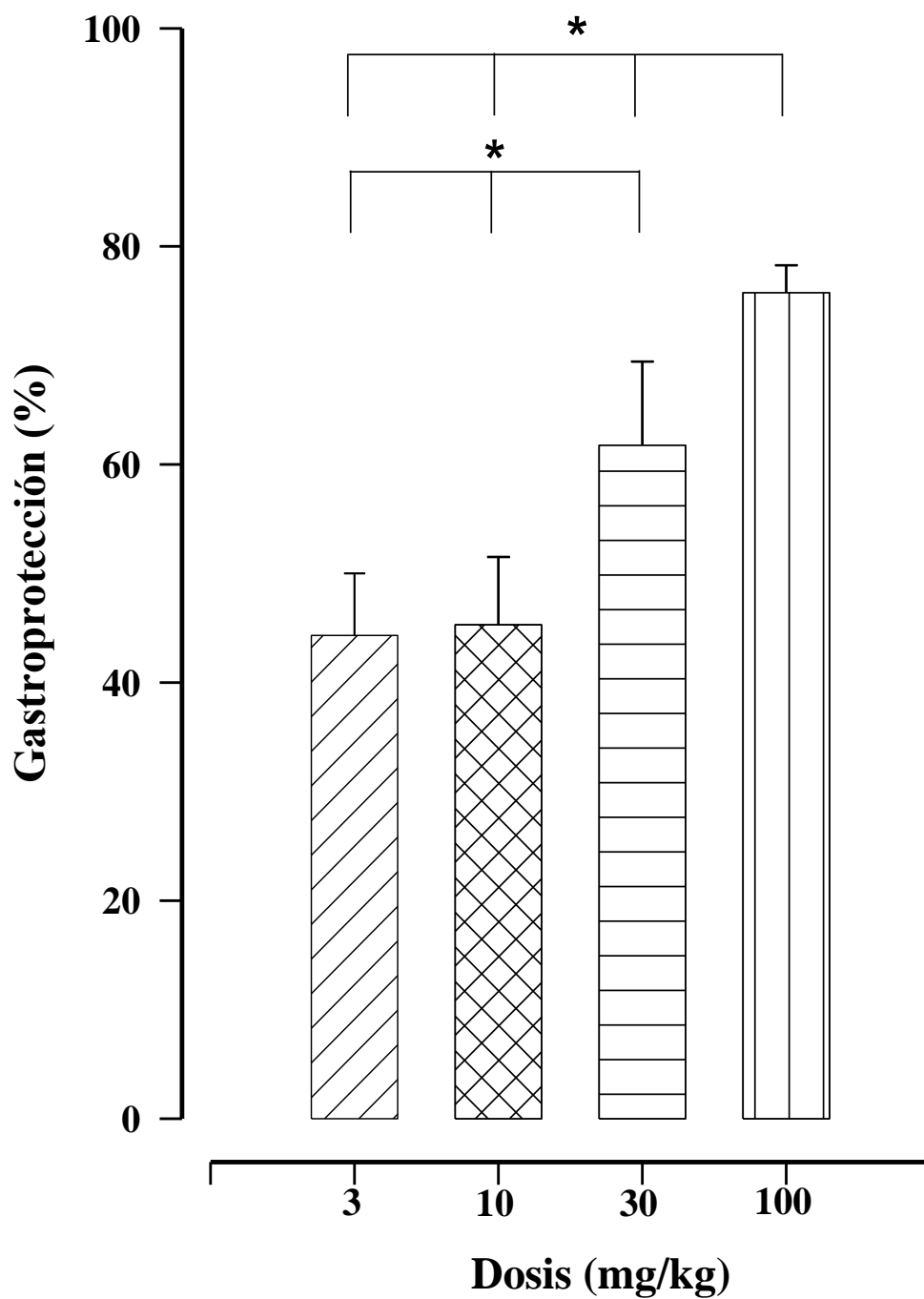
7. RESULTADOS

7.1 Efecto gastroprotector de juanislamin, en el modelo de lesiones gástricas inducidas con indometacina

El tratamiento oral de juanislamin (Figura 3) contra el daño inducido con indometacina, redujo significativamente las lesiones gástricas de manera no dependiente de la dosis. El máximo efecto de gastroprotección se obtuvo con la dosis de 30 mg/kg, con un 97.43 ± 1.15 % de gastroprotección y se encontró una menor actividad con las dosis de 10 y 3 mg/kg ($82.71 \pm 2.66\%$ y $70.63 \pm 5.61\%$, respectivamente). Estos resultados nos demuestran que, juanislamin también protege a la mucosa gástrica contra el daño inducido con indometacina. Respecto al fármaco de referencia (carbenoxolona), esta presentó también un efecto no dependiente de la dosis, sin embargo, el efecto máximo se alcanzó con la dosis de 100 mg/kg, lo que indica que carbenoxolona es menos potente que juanislamin.



Gráfica 1. Efecto gastroprotector de juanislamin, las barras representan el promedio \pm el error estándar de la media (E.E.M.). * $p \leq 0.05$, prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de múltiples comparaciones de Dunn.



Gráfica 2. Efecto gastroprotector de carbenoxolona, las barras representan el promedio \pm el error estándar de la media (E.E.M.). * $p \leq 0.05$, prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de múltiples comparaciones de Dunn.

7.2 Actividad antsecretora de juanislamin

Los resultados de la evaluación de la actividad antsecretora de juanislamin se presentan en la Tabla 1. Se observa que la ranitidina (4.17 ± 0.26), el omeprazol (5.98 ± 0.24) y juanislamin (5.78 ± 0.31), incrementaron significativamente el pH en comparación con el grupo control de vehículo (1.89 ± 0.12), lo cual indica que juanislamin tiene actividad antsecretora.

Para conocer sobre cual vía de secreción ácida pudiera estar actuando juanislamin, se exploraron las tres vías de secreción ácida; a través de los receptores tipo H_2 para histamina, CCK_2 para gastrina y M_3 de acetilcolina. Para esto se evaluaron los fármacos antagonistas en presencia de su correspondiente agonista; así como juanislamin en presencia de los diferentes agonistas para cada vía de secreción ácida.

En los resultados obtenidos de la evaluación de los receptores H_2 y M_3 , se puede observar que los valores de pH gástrico de juanislamin en presencia de su correspondiente agonista (juanislamin + histamina (1.43 ± 0.05) y juanislamin + betanecol (1.52 ± 0.04) respectivamente, no se vieron modificados al compararlos con los controles de histamina (1.24 ± 0.08) y betanecol (1.56 ± 0.16). Por lo tanto, juanislamin no presentó actividad antsecretora a través de los receptores tipo H_2 y M_3 , con respecto a la vía de secreción ácida a través de los receptores a gastrina (CCK_2), se observa que juanislamin aún en presencia de pentagastrina, es capaz de elevar significativamente el pH gástrico (2.89 ± 0.05) con respecto al grupo control de pentagastrina (1.32 ± 0.06), lo cual indica que juanislamin si pudiera estar actuando a través de los receptores a colecistoquinina tipo CCK_2 y, de esta manera, estar presentando actividad antsecretora.

Por otra parte, en los resultados de volumen gástrico no existe una diferencia estadísticamente significativa en el grupo control de vehículo (1.69 ± 0.20 mL) al compararse

con ranitidina (1.36 ± 0.09), atropina (1.41 ± 0.18) y proglumida (1.78 ± 0.19). En las evaluaciones de los fármacos antagonistas en presencia de su agonista correspondiente, se observó un comportamiento similar para los grupos de ranitidina + histamina (1.43 ± 0.10) y atropina + betanecol (1.23 ± 0.12). A diferencia de la estimulación con los diferentes agonistas (histamina (3.42 ± 0.13), betanecol (3.08 ± 0.21) y pentagastrina (2.18 ± 0.09), los cuales favorecieron el incremento del volumen de secreción ácida para cada una de las vías, como era de esperarse. En las evaluaciones de los fármacos antagonistas en presencia de su agonista correspondiente, se observó un comportamiento similar para los grupos de ranitidina + histamina (1.43 ± 0.10) y atropina + betanecol (1.23 ± 0.12). Por otro lado, juanislamin no inhibe la secreción gástrica, porque el volumen de secreción incrementa cuando fue evaluada por si sola y en presencia de histamina, betanecol y pentagastrina, obteniéndose los siguientes resultados; juanislamin + histamina (3.30 ± 0.12), juanislamin + betanecol (2.90 ± 0.15) y juanislamin + pentagastrina (3.30 ± 0.32) respectivamente (Tabla 1).

Tabla 1. Actividad antisecretora de juanislamin.

Grupo	pH	Volumen gástrico (mL)
Control de vehículo	1.89 ± 0.12	1.69 ± 0.20
Ranitidina	4.17 ± 0.26* ^a	1.36 ± 0.09
Atropina	2.63 ± 0.27	1.41 ± 0.18
Proglumida	1.62 ± 0.03	1.78 ± 0.19
Omeprazol	5.98 ± 0.24* ^a	1.57 ± 0.10
Juanislamin	5.78 ± 0.31* ^a	2.18 ± 0.12
Histamina	1.24 ± 0.08* ^b	3.42 ± 0.13 # ^b
Ranitidina + histamina	2.78 ± 0.13* ^c	1.43 ± 0.10 # ^c
Juanislamin + histamina	1.43 ± 0.05	3.30 ± 0.12
Betanecol	1.56 ± 0.16	3.08 ± 0.21 # ^b
Atropina + betanecol	2.18 ± 0.19* ^c	1.23 ± 0.12 # ^c
Juanislamin + betanecol	1.52 ± 0.04	2.90 ± 0.15
Pentagastrina	1.32 ± 0.06* ^b	2.18 ± 0.09
Proglumida + pentagastrina	1.35 ± 0.10	3.00 ± 0.23 # ^c
Juanislamin + pentagastrina	2.89 ± 0.05* ^c	3.30 ± 0.32 # ^c

Los resultados representan el promedio ± el error estándar de la media (E.E.M.) * $p \leq 0.05$, Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn para los resultados de pH y un análisis de varianza (ANOVA), seguida de la prueba de Dunnett para los resultados de volumen gástrico (# $p \leq 0.05$). ^a Comparado con el grupo control de vehículo. ^b Comparado con el grupo control de vehículo. ^c Comparado con el grupo agonista correspondiente para cada vía (histamina, betanecol y pentagastrina).

8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Las úlceras pépticas son lesiones en el tracto gastrointestinal que se extienden hasta la *muscularis mucosae* y se caracterizan por presentar necrosis e infiltración de los neutrófilos. ⁽⁹⁾ Estas lesiones se originan cuando ocurre un desajuste entre los factores protectores (producción de moco y bicarbonato, prostaglandinas, regeneración celular, flujo sanguíneo) y los factores agresores de la mucosa gástrica (ácido gástrico, pepsina, sales biliares, especies reactivas de oxígeno, infección por *Helicobacter pylori*, estrés, tratamientos crónicos con AINE's, consumo de alcohol y tabaco). Las úlceras pépticas son consideradas un problema de salud que prevalece en todo el mundo. ⁽⁴⁰⁾ El tratamiento farmacológico consiste principalmente en suprimir el ácido gástrico, para favorecer la cicatrización de las úlceras, retrasar la recurrencia, aliviar el dolor y fortalecer la mucosa gástrica; dentro de este tratamiento se encuentran los antiácidos, citoprotectores y antisecretores. De estos últimos, los inhibidores de la bomba H^+/K^+ -ATPasa, tales como el omeprazol, esomeprazol, lanzoprazol, pantoprazol, rabeprazol y dexlansoprazol, son utilizados como fármacos de primera elección en el tratamiento de las úlceras pépticas de manera eficaz. Sin embargo, existe evidencia de que el uso crónico de estos genera efectos adversos. Entre ellos; mayor propensión a neumonía y fracturas óseas, trombocitopenia, disminución en la absorción de hierro y vitamina B₁₂, hipergastrinemia y cáncer. ^(40, 9) Además de interferir en algunas interacciones farmacológicas al combinarse con otros fármacos, como el clopidogrel, donde actúan disminuyendo su eficacia e incrementando las probabilidades de que se presenten problemas de trombosis coronaria e infarto al miocardio, ⁽⁴⁷⁾ y el desarrollo de cáncer de páncreas. ⁽⁴¹⁾ No obstante, la investigación de nuevos fármacos es necesaria debido a la gran diversidad de efectos adversos que se derivan de los tratamientos convencionales; es por ello

que existe la necesidad de encontrar agentes terapéuticos más eficaces y con mínimos efectos adversos. ⁽⁴⁸⁾ Las plantas medicinales representan una alternativa para tratar las úlceras gástricas y son una fuente muy importante para el descubrimiento, aislamiento y desarrollo de nuevos fármacos, considerando que desde la antigüedad las plantas son empleadas en la medicina tradicional por un conocimiento empírico para el beneficio de la salud. ⁽⁴²⁾

En este sentido, *Calea urticifolia* es una planta que se utiliza en la medicina tradicional en algunos estados del país, principalmente en El Salvador, Chiapas y San Luis Potosí, para el tratamiento de úlceras gástricas. No obstante, se ha demostrado científicamente que *Calea urticifolia* posee actividad gastroprotectora en el modelo de lesiones gástricas inducidas por etanol; además de que se han aislado compuestos activos responsables de la actividad gastroprotectora (lactonas sesquiterpénicas con esqueleto de germacrano). Algunos de ellos son: calealactona B con un 95.3 ± 2.6 % de gastroprotección a la dosis de 30 mg/kg, ⁽³⁾ caleína D a 30 mg/kg representando un 95.76 ± 2.18 %, ⁽⁵⁾ 2,3-epoxijuanislamina a 30 mg/kg presenta una gastroprotección de 96.10 ± 1.59 % ⁽⁶⁾ y, por último, juanislamin que protege la mucosa gástrica en un 100% de gastroprotección a la dosis de 10 mg/kg. Debido a la gran capacidad que posee juanislamin para prevenir las lesiones gástricas derivadas de la administración oral de etanol, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar su actividad gastroprotectora inducida por la administración de indometacina, además de evaluar su actividad antisecretora para poder conocer su posible mecanismo de acción.

Los AINE's son los fármacos más utilizados en la terapia del dolor, además de ser prescritos para diversas condiciones como artritis, inflamación y protección cardiovascular. ⁽⁴⁹⁾ Estos fármacos bloquean el sitio de unión del ácido araquidónico en la enzima ciclooxigenasa. La

indometacina al ser un inhibidor no selectivo de la ciclooxigenasa, es uno de los principales agentes causales de úlceras pépticas, al inhibir indistintamente ambas isoformas de la ciclooxigenasa (COX-1 y COX-2), lo que provoca una disminución en la biosíntesis de prostaglandinas y como consecuencia la disminución en la secreción de moco, bicarbonato y flujo sanguíneo, ⁽¹⁰⁾ además de que provoca un aumento significativo en la acidez del jugo gástrico.

En este estudio se indujeron lesiones gástricas con 40 mg/kg de indometacina. Posterior a la administración oral de juanislamin y carbenoxolona. El pretratamiento con juanislamin redujo significativamente las lesiones gástricas contra el daño inducido con indometacina, presentando el efecto máximo a la dosis de 30 mg/kg, con un porcentaje de gastroprotección de 97.43 ± 1.15 % (Gráfica 1), lo cual indica que juanislamin protege y previene la mucosa gástrica contra el daño provocado por un AINE, estos resultados nos demuestran que probablemente juanislamin esté promoviendo la síntesis de prostaglandinas endógenas en la mucosa gástrica, las cuales desempeñan un papel importante en el mantenimiento de la integridad de la mucosa gástrica y de diversas funciones del tracto gastrointestinal manteniendo la microcirculación gástrica, la producción de moco y de bicarbonato, para proveer una función protectora contra el daño provocado por la administración de indometacina. ^(34, 51) La actividad biológica encontrada se deriva de la interacción de los grupos funcionales de tipo carbonilo α - β insaturados que poseen las lactonas sesquiterpénicas con los grupos tioles de la cisteína. ⁽⁵⁴⁾

Para explorar la actividad antisecretora de juanislamin se empleó el método de ligadura de píloro descrito por Shay. ⁽⁴³⁾ Fisiológicamente, la secreción de ácido gástrico por las células parietales está regulada a través de varios receptores estimulantes, como la gastrina a través

de los receptores CCK₂, la histamina vía receptor H₂ y acetilcolina vía receptores muscarínicos tipo M₃.⁽³⁵⁾ Los mecanismos responsables de la acción antisecretora en el presente trabajo, se evaluaron mediante pruebas farmacológicas, estimulando la secreción de ácido gástrico con agonistas. Los resultados obtenidos muestran que juanislamin es capaz de reducir la concentración de iones H⁺ (5.78 ± 0.31) en comparación con el grupo control (1.89 ± 0.12), al incrementar significativamente el pH, valores similares se encontraron con el omeprazol (5.98 ± 0.24). Estos resultados refuerzan más la idea de que la actividad biológica de juanislamin es a través de la interacción de los grupos carbonilo α - β insaturados con los grupos tioles de los residuos de cisteína como lo hacen los inhibidores de la bomba H⁺/K⁺ - ATPasa, como el omeprazol.⁽³⁾

En cuanto a la estimulación ácida con los diferentes agonistas, el pretratamiento con juanislamin, incrementó significativamente el pH cuando fue estimulado por pentagastrina (2.89 ± 0.05), pero no por histamina (1.43 ± 0.05) o betanecol (1.52 ± 0.04), lo que indica la probable participación del receptor a colecistoquinina tipo CCK₂ en el efecto antisecretor de juanislamin.

Los receptores CCK₂ de gastrina, se expresan en las células parietales y células similares a las enterocromafines (ECL), su activación puede promover la estimulación de la secreción de ácido gástrico, actualmente los fármacos que actúan a nivel de los receptores CCK₂ se encuentran en desuso por los efectos adversos que provocan en el organismo, además de que no superan en potencia a los inhibidores de la bomba H⁺/K⁺ - ATPasa. No obstante, la efectividad del tratamiento con fármacos inhibidores de la bomba H⁺/K⁺ - ATPasa es alta, pero la administración a largo plazo se ha asociado con diversos efectos adversos como hipergastrinemia reversible, hiperplasia de las células ECL y el consiguiente desarrollo de

carcinoides en la mucosa gástrica. Estos hallazgos refuerzan el valor terapéutico potencial de juanislamin, debido a que podrían ser complementarios a los inhibidores de la bomba H^+/K^+ - ATPasa, para evitar el riesgo de presentar hipergastrinemia, como consecuencia de la aclorhidria producida por una terapia prolongada con fármacos antisecretores y emergiendo como interesantes recursos terapéuticos para el desarrollo de nuevos fármacos para el tratamiento de patologías gastrointestinales como el cáncer gástrico. ⁽⁵²⁾

9. CONCLUSIONES

Se demostró que juanislamin presenta actividad gastroprotectora contra el daño inducido por indometacina. En cuanto a la actividad antsecretora se observa que probablemente juanislamin esté actuando mediante los receptores de colecistoquinina (CCK₂) resaltando la posible ventaja de utilizar las lactonas sesquiterpénicas con esqueleto de germacrano como juanislamin para desarrollar nuevos fármacos para la terapia de úlceras pépticas.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chen H, Liao H, Liu Y, Zheng Y, Wu X, Su Z, Zhang X, Lai Z, Lai X, Lin ZX, Su Z. Protective effects of *pogostone* from *Pogostemonis Herba* against ethanol-induced gastric ulcer in rats. *Fitoterapia*. 2015; 100(1):110-7.
2. Kangwan N, Pintha K, Lekawanvijit S, Suttajit M. Rosmarinic Acid Enriched Fraction from *Perilla frutescens* Leaves Strongly Protects Indomethacin-Induced Gastric Ulcer in Rats. *Biomed Res Int*. 2019; 2019:9514703.
3. Sánchez-Mendoza ME, López-Lorenzo Y, Matus-Meza AS, Arrieta J. Gastroprotective effect of calealactone B: Lack of involvement of prostaglandins, nitric oxide and sulfhydryls. *Drug Dev Res*. 2018; 79(1):11-15.
4. Secretaría de Salud. Boletín Epidemiológico. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Sistema Único de Información. Anuario de Morbilidad 1984 – 2019. Morbilidad por grupo de edad. [Internet]. [Consultado el 01 de agosto del 2021]. Disponible en: https://epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/html/morbilidad_grupo.html
5. Sánchez-Mendoza ME, López-Lorenzo Y, Cruz-Antonio L, Matus-Meza AS, Sánchez-Mendoza Y, Arrieta J. Gastroprotection of *Calein D* against Ethanol-Induced Gastric Lesions in Mice: Role of Prostaglandins, Nitric Oxide and Sulfhyls. *Molecules*. 2019; 24(3): 622.
6. García-Martínez LE, Sánchez-Mendoza ME, Arrieta-Baez D, Cruz-Antonio L, Mejía-Barradas CM, Soto-Perulero CR, Jesús Arrieta. Gastroprotection of 2,3-epoxyjuanislinin, Isolated from *Calea urticifolia*, Against Ethanol-induced Gastric Lesions in Wistar Rats. *Int J Pharmacol*. 2016; 12(8) 893-900.

7. Sánchez-Mendoza ME, López-Lorenzo Y, Cruz-Antonio L, Cruz-Oseguera A, García-Machorro J, Arrieta J. Gastroprotective Effect of Juanislamin on Ethanol-Induced Gastric Lesions in Rats: Role of Prostaglandins, Nitric Oxide and Sulfhydryl Groups in the Mechanism of Action. *Molecules*. 2020; 25(9): 2246.
8. Woolf A, Rose R. Gastric Ulcer. *StatPearls* [Internet]. 2019.
9. Sharifi-Rad M, Fokou PVT, Sharopov F, Martorell M, Ademiluyi AO, Rajkovic J, Salehi B, Martins N, Iriti M, Sharifi-Rad J. Antiulcer Agents: From Plant Extracts to Phytochemicals in Healing Promotion. *Molecules*. 2018; 23(7): 1751.
10. Abreu Miranda M, Lemos M, Alves Cowart K, Rodenburg D, D McChesney J, Radwan MM, Furtado NA, Kenupp Bastos J. Gastroprotective activity of the hydroethanolic extract and isolated compounds from the leaves of *Solanum cernuum* Vell. *J Ethnopharmacol*. 2015; 172:421-9.
11. Secretaría de Salud. Boletín Epidemiológico. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Sistema Único de Información. Anuario de Morbilidad 1984 – 2019. Morbilidad por grupo de edad. [Internet]. [Consultado el 26 de octubre del 2021]. Disponible en: <https://www.gob.mx/salud/documentos/boletinepidemiologico-sistema-nacional-de-vigilancia-epidemiologica-sistema-unico-de-informacion-261547>
12. Park JU, Kang JH, Rahman MAA, Hussain A, Cho JS, Lee YI. . Gastroprotective Effects of Plants Extracts on Gastric Mucosal Injury in Experimental Sprague-Dawley Rats. *Biomed Res Int*. 2019; 2019:8759708.
13. Fazalda A, Quraisiah A, Nur Azlina MF. Antiulcer Effect of Honey in Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs Induced Gastric Ulcer Model in Rats: A Systematic Review. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2018; 2018:7515692.

14. Díaz-Casasola L. Mucosa gástrica: mecanismos protectores y efectos dañinos del ácido acetilsalicílico. Enfoques fisiológico y bioquímico. Rev Med Inv. 2015; 1(3) 100-103.
15. Saremi K, Rad SK, Tayeby F, Abdulla MA, Karimian H, Majid NA. Gastroprotective activity of a novel Schiff base derived dibromo substituted compound against ethanol-induced acute gastric lesions in rats. BMC Pharmacol Toxicol. 2019; 20(1):13.
16. Schubert ML. Physiologic, pathophysiologic, and pharmacologic regulation of gastric acid secretion. Curr Opin Gastroenterol. 2017; 33(6):430-438.
17. Tsukimi Y, Okabe S. Recent advances in gastrointestinal pathophysiology: role of heat shock proteins in mucosal defense and ulcer healing. Biol Pharm Bull. 2001; 24(1):1-9.
18. Sandoval M, Ayala S, Oré R, Loli R, Huamán O. Estimulación de la actividad péptica del jugo gástrico, inducida por látex de *Croton palanostigma* (sangre de grado). An Fac med. 2008; 69(3):164-7.
19. Allen A, Flemström G. Gastroduodenal mucus bicarbonate barrier: protection against acid and pepsin. Am J Physiol Cell Physiol. 2005; 288(1):C1-19.
20. Cebra CK, Tornquist SJ, Bildfell RJ, Heidel JR. Bile acids in gastric fluids from llamas and alpacas with and without ulcers. J Vet Intern Med. 2003; 17(4):567-70.
21. Duane WC, Wiegand DM, Sievert CE. Bile acid and bile salt disrupt gastric mucosal barrier in the dog by different mechanisms. Am J Physiol. 1982; 242(2):G95-9.
22. Takeuchi K. Pathogenesis of NSAID-induced gastric damage: importance of cyclooxygenase inhibition and gastric hypermotility. World J Gastroenterol. 2012; 18(18):2147-2160.
23. Boutemine IM, Amri M, Amir ZC, Fitting C, Mecherara-Idjeri S, Layaida K, Sennoun N, Berkane S, Cavillon JM, Touil-Boukoffa C. Gastro-protective, therapeutic and anti-

- inflammatory activities of *Pistacia lentiscus* L. fatty oil against ethanol-induced gastric ulcers in rats. *J Ethnopharmacol.* 2018; 224:273-282.
24. Fahmi AA, Abdur-Rahman M, Aboul Naser AF, Hamed MA, Abd-Alla HI, Shalaby NMM, Nasr MI. Chemical composition and protective role of *Pulicaria undulata* (L.) C.A. Mey. Subsp. *undulata* against gastric ulcer induced by ethanol in rats. *Heliyon.* 2019; 5(3):e01359.
 25. Thomas GA, Rhodes J, Ingram JR. Mechanisms of disease: nicotine--a review of its actions in the context of gastrointestinal disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol.* 2005; 2(11):536-44.
 26. Maity P, Biswas K, Roy S, Banerjee RK, Bandyopadhyay U. Smoking and the pathogenesis of gastroduodenal ulcer--recent mechanistic update. *Mol Cell Biochem.* 2003; 253(1-2):329-38.
 27. Nur Azlina MF, Qodriyah HMS, Chua KH, Kamisah Y. Comparison between tocotrienol and omeprazole on gastric growth factors in stress-exposed rats. *World J Gastroenterol.* 2017; 23(32):5887-5894.
 28. Bakaeva ZV1, Ermakova NV, Mankaeva OV, Sveshnikov DS, Severin AE, Sinel'nikova AN, Starshinov YP, Radysh IV, Torshin VI, Frolov DA, Kozlov IG. Collagen Hydrolysis Products Reduce the Formation of Stress-Induced Ulcers by Regulating Stress-Associated Activation of the Neuroendocrine and Immune Systems. *Bull Exp Biol Med.* 2018; 165(4):449-452.
 29. Gu H. Role of Flagella in the Pathogenesis of *Helicobacter pylori*. *Curr Microbiol.* 2017; 74(7):863-869.
 30. Takeuchi K, Kato S, Amagase K. Prostaglandin EP receptors involved in modulating gastrointestinal mucosal integrity. *J Pharmacol Sci.* 2010; 114(3):248-61.

31. Mollace V, Muscoli C, Masini E, Cuzzocrea S, Salvemini D. Modulation of prostaglandin biosynthesis by nitric oxide and nitric oxide donors. *Pharmacol Rev.* 2005; 57(2):217-52
32. Takeuchi K. Modulation of Capsaicin-Induced Gastric Protection by Endogenous Prostaglandins through EP2/IP Receptors. *IntechOpen.* [Internet]. 2014 [Consultado 22 de julio 2019]. Disponible en: <https://www.intechopen.com/books/capsaicin-sensitive-neural-afferentation-and-the-gastrointestinal-tract-from-bench-to-bedside/modulation-of-capsaicin-induced-gastric-protection-by-endogenous-prostaglandins-through-ep2-ip-recep>
33. Arrieta J, Reyes-Trejo B, Reyes-Ramírez A, Rodríguez-Silverio J, Sánchez-Mendoza ME. Papel de los grupos sulfhidrilos, las prostaglandinas y el óxido nítrico endógeno, en la gastroprotección del lanosterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en rata. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas.* 2009; 3(40):17-21.
34. Sreeja PS, Arunachalam K, Saikumar S, Kasipandi M, Dhivya S, Murugan R, Parimelazhagan T. Gastroprotective effect and mode of action of methanol extract of *Sphenodesme involucrata* var. *paniculata* (C.B. Clarke) Munir (Lamiaceae) leaves on experimental gastric ulcer models. *Biomed Pharmacother.* 2018; 97(1):1109-1118.
35. Esplugues JV, Martí-Cabrera, Flórez J. Farmacología de la secreción gastrointestinal y de la ulceración mucosa digestiva. *Farmacología humana.* 6ª ed. España: Elsevier; 2014, p. 708-721.
36. Hoogerwerf WA. Pasricha PJ. Farmacoterapia de la acidez gástrica, úlceras pépticas y enfermedad por reflujo gastroesofágico. *Las bases farmacológicas de la terapéutica.* 11ª. México: McGraw-Hill Interamericana; 2007, p. 967-980.
37. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ, Henderson G. Aparato digestivo. *Farmacología.* 7ª. ed. España: Elsevier: 2012, p. 360-370.

38. Jain KS, Shah AK, Bariwal J, Shelke SM, Kale AP, Jagtap JR, Bhosale AV. Recent advances in proton pump inhibitors and management of acid-peptic disorders. *Bioorg Med Chem.* 2007; 15(3):1181–1205.
39. García-Martínez LE. Estudio biodirigido de la actividad gastroprotectora de *Calea urticifolia* en ratas Wistar. Tesis de doctorado. México, Sección de estudios de posgrado e investigación, Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional. 2018.
40. Boeing T, da Silva LM, Somensi LB, Cury BJ, Michels Costa AP, Petreanu M, Niero R, de Andrade SF. Antiulcer mechanisms of *Vernonia condensata* Baker: A medicinal plant used in the treatment of gastritis and gastric ulcer. *J Ethnopharmacol.* 2016; 184:196-207.
41. Peng YC, Lin CL, Hsu WY, Lu IT, Yeh HZ, Chang CS, Kao CH. Proton Pump Inhibitor Use is Associated With Risk of Pancreatic Cancer: A Nested Case-Control Study. *Dose Response. An International Journal.* 2018; 16(4): 1-7.
42. López-Rodríguez R, Herrera-Ruiz M, Trejo-Tapia G, Domínguez-Mendoza BE, González-Cortazar M, Zamilpa A. In Vivo Gastroprotective and Antidepressant Effects of Iridoids, Verbascoside and Tenuifloroside from *Castilleja tenuiflora* Benth. *Molecules.* 2019; 24(7). pii: E1292.
43. Antonio JM, Gracioso JS, Toma W, Lopez LC, Oliveira F, Brito AR. Antiulcerogenic activity of ethanol extract of *Solanum variable* (false "jurubeba"). *J Ethnopharmacol.* 2004; 93(1):83-8.
44. Barka BZ, Tlili M, Alimi H, Miled HB, Rhouma HB, Sakly M, Ksouri R, Schneider YJ, Tebourbi O. Protective effects of edible *Rhus tripartita* (Ucria) stem extract against ethanol-induced gastric ulcer in rats. *J Funct Foods.* 2017; 30(3):260-269.

45. Choi YJ1, Kim N, Lee JY, Nam RH, Chang H, Seo JH, Kang KK, Kim HJ, Choi YJ, Lee HS, Lee DH. Protective effects of garlic extract, PMK-S005, against nonsteroidal anti-inflammatory drugs-induced acute gastric damage in rats. *Dig Dis Sci.* 2014; 59(12):2927-34.
46. Torres-Rodríguez ML, García-Chávez E, Berhow M, de Mejia EG. Anti-inflammatory and anti-oxidant effect of *Calea urticifolia* lyophilized aqueous extract on lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. *J Ethnopharmacol.* 2016; 21(188):266-74.
47. Shah NH, LePendur P, Bauer-Mehren A, Ghebremariam YT, Iyer SV, Marcus J, Nead KT, Cooke JP, Leeper NJ. Proton Pump Inhibitor Usage and the Risk of Myocardial Infarction in the General Population. *PLoS One.* 2015;10(6): e0124653.
48. Park JU, Kang JH, Rahman MAA, Hussain A, Cho JS, Lee YI. . Gastroprotective Effects of Plants Extracts on Gastric Mucosal Injury in Experimental Sprague-Dawley Rats. *Biomed Res Int.* 2019; 2019:8759708.
49. Matsui H, Shimokawa O, Kaneko T, Nagano Y, Rai K, Hyodo I. The pathophysiology of non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID)-induced mucosal injuries in stomach and small intestine. *J Clin Biochem Nutr.* 2011; 48(2):107-11.
50. Lorenzo P, Moreno A, Leza JC, Lizasoain I, Moro MA, Portolés A. Velázquez. *Farmacología Básica y Clínica.* 19ª. ed. Ciudad de México. España. Editorial Médica Panamericana. 2017.
51. Adelaja AA, Ayoola MD, Otulana JO, Akinola OB, Olayiwola A, Ejiwunmi AB. Evaluation of the histo - gastroprotective and antimicrobial activities of *heliotropium indicum* linn (boraginaceae). *Malays J Med Sci.* 2008; 15(3):22-30.

52. Burci LM, Pereira IT, da Silva LM, Rodrigues RV, Facundo VA, Militão JS, Santos AR, Marques MC, Baggio CH, Werner MF. Antiulcer and gastric antisecretory effects of dichloromethane fraction and pirlartine obtained from fruits of *Piper tuberculatum* Jacq. in rats. *J Ethnopharmacol.* 2013; 148(1):165-74.
53. Torres-Rodríguez ML, García-Chávez E, Soto-Peña GA, Cubillas-Tejada AC. Evaluación de la toxicidad aguda *in vivo* del extracto etanólico y acuso de *Calea urticifolia*. *Botanical Sciences.* 2016; 94 (1).
54. Ruiz-Reyes E, Suárez M. Lactonas sesquiterpénicas. Diversidad estructural y sus actividades biológicas. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas.* 2015; 45(1): 9-24.
55. Yamada M, Matsuura N, Suzuki H, Kurosaka C, Hasegawa N, Ubukata M, Tanaka T y Ilinuma M. Germacranolides from *Calea urticifolia*. *ELSEVIER. Phytochemistry.* 2004; 65: 3107-3111.