



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

***Efecto gastroprotector de DGS aislado de Lp:
participación de grupos sulfhidrilo,
prostaglandinas y óxido nítrico en su
mecanismo de acción***

T E S I S
PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
P R E S E N T A:
ALEJANDRO MARTÍNEZ GONZÁLEZ



MÉXICO, D.F.

2007



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.

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

JUDARO ASIGNADO

Presidente	Dr. Andrés Navarrete Castro
Vocal	M. en C. Ma. Martha Ugalde Hernández
Secretario	Q. Martha Trinidad Julieta Oliveros García
Suplente	M. en C. Leticia Huerta Flores
Suplente	M. en C. José Luis Trejo Miranda

Lugar en el que se desarrolló este trabajo:

Laboratorio 126. Departamento de Farmacia. Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México y FES Zaragoza UNAM

Director de Tesis:

Dr. Andrés Navarrete Castro

Asesor de Tesis:

M. en C. Ma. Martha Ugalde Hernández

Sustentante:

Alejandro Martínez González

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

Agradecimientos

Este proyecto fue financiado por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico a través del proyecto DGAPA IN 201506 y del Proyecto CONACYT C01-18

Agradecimientos

A la QFB Nancy Graciela Serrano Medrano por su apoyo, experiencia y conocimientos compartidos durante el desarrollo de este proyecto.

Al Dr. Andrés Navarrete Castro, por su confianza, enseñanzas y sabiduría, ya que sin el no sería posible nada de esto.

A la M. en C. María Martha Ugalde Hernández. Por haberme sugerido realizar esta tesis

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

Dedicatoria

A mi madre Teodora ya que sin ella no sería nada, por su infinito amor y comprensión, por ser la luz en los momentos más oscuros de mi vida.

A mis hermanas Alma, Lupe y Rocío, por ser la alegría de mi vida y la razón para vencer todo.

NOTA ACLARATORIA

El presente trabajo de tesis contiene información innovadora, la cual se encuentra en proceso de patente, razón por la cual sólo se nombrará DGS al compuesto aislado de una planta llamada *Lp*. No se proporcionará información sobre el análisis espectrofotométrico y espectroscópico del compuesto, ya que este trámite así lo exige. Además, por obvias razones no se aportará información sobre la planta (historia, descripción, propiedades, etc.) con el propósito de proteger la patente.

Los componentes DGS y RGS son dímeros de un compuesto mayoritario presente en la planta al que llamaremos Z-LGS. Ante cualquier duda se incluirá una lista con las claves y su descripción.

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

LISTADO DE CLAVES

Planta *Lp*-----Planta estudiada de la cual se aisló el DGS.

DGS-----Compuesto con actividad gastroprotectora, dímero de
Z-LGS.

Z-LGS-----Compuesto mayoritario de la planta *Lp*.

RGS-----Dímero del Z-LGS e isómero de DGS.

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrido, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

I. INTRODUCCIÓN	1
II. FUNDAMENTO TEÓRICO	2
2.1 ÚLCERA GÁSTRICA.....	2
2.1.1 <i>Definición</i>	2
2.1.2 <i>Etiología</i>	3
2.1.3 <i>Patología</i>	3
2.1.4 <i>Sintomatología</i>	5
2.2 MODELOS EXPERIMENTALES DE ÚLCERA	5
2.2.1 <i>Lesiones gástricas inducidas por etanol</i>	6
2.3 TRATAMIENTOS DE LA ÚLCERA.....	6
2.3.1 <i>Antiácidos</i>	7
2.3.2 <i>Antisecretores</i>	7
2.3.2.1 <i>Antimuscarínicos</i>	7
2.3.2.2 <i>Antagonistas de los receptores H₂</i>	8
2.3.2.3 <i>Inhibidores de la ATPasa H⁺ /K⁺ (Bomba de protones)</i>	8
2.3.2.4 <i>Antagonistas de la gastrina</i>	9
2.3.3 <i>Citoprotectores</i>	9
2.3.3.1 <i>Sucralfato</i>	11
2.3.3.2 <i>Sales de bismuto</i>	12
2.3.3.3 <i>Carbenoxolona</i>	12
2.3.3.4 <i>Análogos de prostaglandinas</i>	13
2.3.4 <i>Citoprotectores independientes de prostaglandinas</i>	13
2.3.4.1 <i>Grupos sulfhidrido</i>	13
2.3.4.2 <i>Factor de crecimiento epidérmico</i>	14
2.3.4.3 <i>Meciadanol</i>	14
2.3.4.4 <i>Sulglucótido</i>	15
2.3.4.5 <i>Alginato</i>	15
2.3.5 <i>Mecanismos de Gastroprotección</i>	15
2.3.5.1 <i>Factores funcionales</i>	16
2.3.5.2 <i>Factores neuronales</i>	17
2.3.5.3 <i>Factores humorales</i>	17
2.4 PRINCIPIOS ACTIVOS AISLADOS DE PLANTAS CON ACTIVIDAD ANTIULCEROSA	18
2.4.1 <i>Flavonoides</i>	18
2.4.2 <i>Saponinas</i>	19
2.4.3 <i>Taninos</i>	19
2.4.4 <i>Gomas y mucílagos</i>	20
2.4.5 <i>Alcaloides</i>	21
2.4.6 <i>Aceites</i>	21
2.4.7 <i>Triterpenoides</i>	22
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	24
IV. HIPÓTESIS	25
V. OBJETIVO	26
VI. METODOLOGÍA	27
6.1 APARATOS	27
6.2 ANIMALES	27
6.3 EXTRACTOS DE <i>LP</i>	27
6.4 DECOCCIÓN DE <i>LP</i>	28
6.5 EXTRACCIÓN DEL DGS.....	28
6.6 COMPUESTO, FÁRMACOS Y DOSIFICACIÓN	30
6.7 DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE ÚLCERA	30
6.8 DETERMINACIÓN DE LA GASTROPROTECCIÓN DEL LOS EXTRACTOS DE <i>LP</i>	31
6.9 DETERMINACIÓN DEL EFECTO GASTROPROTECTOR DE DGS	33

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidriilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

6.10 DETERMINACIÓN DE LA PARTICIPACIÓN DE PROSTAGLANDINAS EN EL MECANISMO DE ACCIÓN DEL DGS	35
6.11 DETERMINACIÓN DE LA PARTICIPACIÓN DEL ÓXIDO NÍTRICO EN EL MECANISMO DE ACCIÓN DEL DGS	37
6.12 DETERMINACIÓN DE LA PARTICIPACIÓN DE LOS GRUPOS SULFHIDRILO EN EL MECANISMO DE ACCIÓN DE DGS	39
VII. RESULTADOS	41
VII. ANÁLISIS DE RESULTADOS	48
VIII. CONCLUSIONES.....	51
IX. BIBLIOGRAFÍA.....	52

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidriilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

6.10 DETERMINACIÓN DE LA PARTICIPACIÓN DE PROSTAGLANDINAS EN EL MECANISMO DE ACCIÓN DEL DGS	35
6.11 DETERMINACIÓN DE LA PARTICIPACIÓN DEL ÓXIDO NÍTRICO EN EL MECANISMO DE ACCIÓN DEL DGS	37
6.12 DETERMINACIÓN DE LA PARTICIPACIÓN DE LOS GRUPOS SULFHIDRILO EN EL MECANISMO DE ACCIÓN DE DGS	39
VII. RESULTADOS	41
VII. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	48
VIII. CONCLUSIONES.....	51
IX. BIBLIOGRAFÍA.....	52

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente existen fármacos para el tratamiento de la úlcera péptica, como son los antiácidos, los antisecretores y los citoprotectores. Sin embargo, este padecimiento sigue teniendo un alto índice de morbilidad y mortalidad, se estima que a nivel mundial 237 mil personas murieron en el año 2000 a causa de esta enfermedad, por lo cual se buscan nuevas alternativas en la terapéutica. Una de estas opciones es la herbolaria, de la cual se desprende *Lp*, una planta poco estudiada, pero con excelente prestigio en la medicina tradicional mexicana para enfermedades del sistema respiratorio. Además, de esto también se aplica en padecimientos del sistema nervioso, cardiovascular, linfático y gastrointestinal. De este último cobra importancia la presente investigación, ya que *Lp* es recetado para aliviar el dolor causado por principios de úlcera e indigestión estomacal. En el presente trabajo se investigó las propiedades gastroprotectoras del DGS y si en su mecanismo de acción se encuentran involucrados los grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y el óxido nítrico.

II. FUNDAMENTO TEÓRICO

2. 1 Úlcera gástrica

2.1.1 Definición

Se denomina úlcera gástrica al segmento escoriado de la mucosa gastrointestinal que penetra hasta la capa muscular (Guth, 1973), 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 Izoo, 2000). En tanto que las alteraciones restringidas sólo a mucosa, se denominan erosiones (Guth, 1973).

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 la úlcera duodenal, la característica más importante es el aumento de masa de las células parietales acompañado de un incremento en la capacidad secretora, además aumenta el ritmo de vaciamiento gástrico en pacientes con úlcera duodenal y esto ocasiona un aumento de carga ácida para el duodeno, sobre todo durante la segunda media hora después de la ingesta de alimentos (Sodeman y Sodeman 1984).

Las úlceras dependiendo de la hipersecreción de ácido producido, se clasifican principalmente en dos grupos: úlceras tipo 1 y 2. En las úlceras tipo 1, que se producen en el estómago, hay poca o ninguna hipersecreción de ácido. Las úlceras tipo 2 abarcan tanto gástricas, astrales, prepilóricas y duodenales; se caracterizan por la hipersecreción (Brunton, 1996).

2.1.2 Etiología

El resultado de una zona localizada de necrosis y digestión del revestimiento del tubo digestivo es el desarrollo de la úlcera péptica. Esto deja una zona sin moco en la mucosa gástrica, susceptible a la posterior digestión. La causa ordinaria de la úlcera péptica es el desequilibrio entre la secreción de jugo gástrico, el grado de protección producido por la barrera mucosa gastrointestinal 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, existen cuatro posibles causas: a) calidad en la secreción del 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.

2.1.3 Patología

La fisiopatología de la enfermedad por secreción ácida puede considerarse como un desequilibrio entre los factores agresivos como son: la secreción de ácido y pepsina, factores externos como el uso de AINEs, infección con *Helicobacter*

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

pylori y las defensas locales de la mucosa, constituidas por la secreción de moco, bicarbonato, prostaglandinas, óxido nítrico, neuronas sensibles a la capsaicina y grupos sulfhidrilo (Borrrelli e Izoo, 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 la ácido acetilsalicílico. 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, como el aumento de la secreción del ácido, incremento del flujo duodeno gástrico y retardo de la curación de las úlceras (Samet, 2002). Los corticosteroides, alcohol, café, indometacina, fenilbutazona y 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 producción 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. 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 esta bacteria provoca más del 90% de las úlceras duodenales y más del 80% de las gástricas (Marshall y Warren, 2005) a través de un incremento en la secreción de ácido gástrico, inducción metaplasma gástrica en el duodeno, alteración en la mucosa e inducción de la formación de metabolitos inflamatorios de la mucosa gástrica,

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrido, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

además está asociada a la mayoría de los casos de gastritis superficial crónica, úlcera péptica, cáncer gástrico, atrofia gástrica y linfomas de mucosa gástrica (Torres, 2003). Los genes del *H. pylori* y su secreción de toxinas le permiten adherirse al estómago con mayor facilidad que otras bacterias con lo que aumenta su patogenicidad en el desarrollo de úlceras (IMSS, 2004; Blazer y Parsonnet, 1994).

2.1.4 Sintomatología

El dolor es el síntoma más notable de la úlcera péptica, que se caracteriza por ser crónica y periódica en relación con la ingestión de alimentos. El dolor suele ser agudo o sordo y se describe como una sensación de ardor, vacío o pesadez en la parte alta del estómago (Simita y Thies, 1989).

Además se presentan síntomas como: náuseas, vómito, anorexia y pérdida de peso, estos se pueden producir por hipersensibilidad de la zona lesionada. El vómito del jugo gástrico se presenta en caso de hipersecreción del mismo (Valadez, 1989). Se pueden presentar algunas complicaciones en la úlcera péptica como: sangrado que es lo más frecuente, fenómenos obstructivos y penetración hacia órganos vecinos o el peritoneo (Scoll, 1994).

2.2 Modelos experimentales de úlcera

Los modelos experimentales de úlcera se deben reproducir, tan cerca como sea posible este padecimiento y se realizan con el propósito de evaluar la eficacia de los tratamientos terapéuticos. La úlcera gástrica puede ser inducida en ratas por una variedad de métodos como: ligaduras del píloro, dieta de glucosa,

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

administración de etanol, fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), agentes necrosantes y estrés. De los cuales sólo se profundizará en el modelo de la administración con etanol.

2.2.1 Lesiones gástricas inducidas por etanol

Las lesiones son producidas por la administración intragástrica de etanol en cantidades que van de 0.5 a 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 a 3 minutos después de su administración, antes de la aparición de lesiones hemorrágicas, las cuales aparecen de 1-2 horas después de la administración de etanol (Szabo *et al.*, 1985; Galvin y Szabo 1992). El etanol en altas concentraciones promueve la solubilización de la capa de la mucosa gástrica, el agotamiento de la mucina intracelular con una difusión luminal de mucosustancias. El etanol en forma concentrada 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).

2.3 Tratamientos de la úlcera

Los fármacos empleados en el tratamiento de la úlcera tiene como objetivo contrarrestar los factores agresivos o estimular los factores que defienden a la mucosa gástrica tales como moco, bicarbonato, flujo sanguíneo y óxido nítrico

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

(Borrelli e Izzo, 2000). Los fármacos empleados en el tratamiento de la úlcera gástrica se clasifican en: antiácidos, antisecretores y citoprotectores (Hoogerwerf y Pasricha 2001).

2.3.1 Antiácidos

Los antiácidos pueden definirse como sustancias que consumen los protones H^+ secretados por las células parietales, sin interferir directamente con los procesos de secreción. Los antiácidos más utilizados son los no absorbibles, principalmente sales de aluminio y magnesio. Los antiácidos absorbibles se usan en forma limitada en la actualidad, sin embargo el bicarbonato de sodio todavía tiene un amplio uso (Flores y Espulgues, 1999).

Los principales problemas de los antiácidos se relacionan con su tiempo de corta acción, sus efectos adversos son constipación, diarrea, síndrome de lacto alcalosis, hipercalcemia, nefrolitiasis y bloqueo intestinal para la absorción de fósforo.

2.3.2 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 Jordán, 2004).

2.3.2.1 Antimuscarínicos

Este tipo de compuestos, como la pirenzepina, bloquean los receptores muscarínicos del tipo M^1 e inhiben de esta forma la secreción gástrica estimulada por la acetilcolina (Bays y Finch, 1990). El uso de la pirenzepina está limitado por

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

sus efectos adversos, siendo los más frecuentes resequedad de la boca y visión borrosa. 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 metantelina, propantelina, daranzepina, y telenzepina (Bertaccini y Coruzzi, 1985).

2.3.2.2 Antagonistas de los receptores H₂

Este grupo de compuestos sin duda es una de las clases más importantes de medicamentos en el tratamiento de las úlceras pépticas. Son fármacos que antagonizan competitivamente la acción de la histamina sobre los receptores H₂ (Brunton, 1996). El primero en uso clínico fue la cimetidina, la cual retiene el anillo imidazol de la histamina. En los productos más recientes, el anillo imidazólico es reemplazado por un furano (ranitidina) o tiazol (famotidina y nizatidina) (Brunton, 1996). Los efectos adversos más comunes de algunos de estos fármacos son desórdenes mentales, pérdida de la libido e incremento de creatinina y transaminasa en el plasma (Espejo y Noguez, 1990).

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

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

El omeprazol es un profármaco, ya que el mismo no interacciona con la bomba de protones, sino que requiere de la conversión a un componente tetracíclico activo por el medio ácido existente en el canalículo secretor de la célula parietal. Este compuesto reacciona rápidamente formando uniones disulfuro con los residuos

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

de cisteína de la cadena α del sector luminal de la ATPasa-H⁺/K⁺ y origina el denominado complejo inhibidor (Flores y Espulgues, 1999).

El lansoprazol y pantoprazol tienen un mecanismo de acción idéntico al omeprazol ya que no inhiben directamente la actividad de la ATPasa-H⁺/K⁺, sino que actúan por sus dos metabolitos activos (Flores y Espulgues, 1999).

Las reacciones adversas más habituales para estos compuestos son episodios de diarrea, náuseas, mareos y jaqueca, también se han descrito algunos casos de erupción cutánea. Estas manifestaciones son casi siempre transitorias y de intensidad moderada, sin que se requiera reducir la dosis del compuesto (Flores y Espulgues, 1999).

2.3.2.4 Antagonistas de la gastrina

Diversas sustancias funcionan como antagonistas de la gastrina, por su gran similitud estructural con la colecistocinina. Incluyendo derivados del ácido glutámico (proglumida), análogos del triptofano (benzotript) y de las benzodiazepinas. 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, sólo representa una posibilidad teórica puesto que no se ha demostrado su utilidad práctica (Flores y Espulgues, 1999).

2.3.3 Citoprotectores

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

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

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, una directa y otra adaptativa (Kontureck, 1990). Se conoce como citoprotección directa a la protección de la mucosa gástrica provocada por la administración de prostaglandinas exógenas (Kontureck, 1990; Tsukimi y Okabe. 2001).

La citoprotección adaptativa se ha denominado así, debido a que está mediado por la liberación endógena de las prostaglandinas de la mucosa gástrica (Kontureck, 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%, NaCl del 2-4%, HCl del 0.2-0.35M, NaOH del 0.05-0.075M, café, chile o agua a 70°C, los cuales previenen las lesiones macroscópicas de la mucosa provocada por agentes necrosantes como etanol al 100%, HCl 0.6M, NaOH 0.2M y NaCl al 25 % (Robert *et al.*, 1983).

La importancia de las prostaglandinas endógenas en la modulación de los mecanismos de defensa de la mucosa, se deriva de diversas observaciones que apuntan a que los AINEs son potentes inhibidores de la síntesis de prostaglandinas, 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 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

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

vasculares a agentes nocivos, aunque este no es el único mecanismo de protección implicado. Al respecto se sabe que las prostaglandinas además son capaces de estimular la secreción basal de moco y bicarbonato, incrementar así el gradiente de 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 submucosa y no tanto en la superficie de la mucosa (Kontureck et al., 1987; Shorrock y Rees, 1988)

Las prostaglandinas fueron las primeras sustancias en clasificarse como citoprotectores, actualmente se incluyen dentro de este grupo a ciertas sustancias que tiene actividad semejante a las prostaglandinas o que promueven su biosíntesis. Entre los compuestos citoprotectores se incluyen al sucralfato, sales de bismuto, carbenoxolona y análogos de prostaglandinas.

2.3.3.1 Sucralfato

Este es una base de aluminio que en condiciones ácidas forma una sustancia viscosa que se une a la superficie de las células epiteliales y a la base de los cráteres ulcerosos. La afinidad por la base del cráter es mucho mayor que la superficie epitelial y es difícil de lavar el gel del cráter. Es probable que la unión con los cráteres sea la principal acción terapéutica del sucralfato. Este compuesto estimula la formación de prostaglandinas en la mucosa gástrica, ejerciendo una acción "citoprotectora" (Ligumsky *et al.*, 1984), se ha descrito que el sucralfato estimula el transporte de bicarbonato hacia la mucosa gástrica y duodenal, así

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

como también incrementa la viscosidad del moco y mantiene un flujo sanguíneo adecuado en las células subepiteliales gástricas (Rees, 1991).

El sucralfato es bien tolerado y son muy pocos los casos en que es necesario interrumpir el tratamiento. Este tratamiento obliga a reajustar la dosis de muchos fármacos debido a que este modifica su absorción y biodisponibilidad (Flores y Espulgues, 1999).

2.3.3.2 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, aumenta 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 *H. pylori* del epitelio gástrico, con la consiguiente eliminación de la bacteria (Brunton, 1996).

2.3.3.3 Carbenoxolona

La carbenoxolona es un triterpeno pentacíclico derivado de la hidrólisis del ácido glicirrizico; fue uno de los primeros medicamentos empleados contra la úlcera y no afecta la secreción gástrica. Se ha encontrado que la carbenoxolona incrementa la vida media del epitelio gástrico, inhibe la actividad péptica, estimula la secreción de moco y bicarbonato, inhibe la difusión del ácido, incrementa la

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

producción de prostaglandinas e inhibe a las enzimas que metabolizan a las prostaglandinas (Takeuchi et al., 1998).

2.3.3.4 Análogos de prostaglandinas

Debido a que la administración de prostaglandinas puede proteger a la mucosa gástrica contra diversas agresiones ulcero génicas, se han desarrollado análogos de metabolización lenta (O'Brien et al., 1986). Estos incluyen análogos de la PGE₁ como el misoprostol y rioprostil, además análogos PGE₂ como el arbaprostil, emprostil y trimoprostol. Estos fármacos están indicados para la prevención de daño a la mucosa causado por AINEs (Hoogerwerf y Pasricha, 2001.; 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 está contraindicado en mujeres embarazadas ya que es un potente abortivo, pues incrementa las contracciones uterinas (Hoogerwerf y Pasricha, 2001).

2.3.4 Citoprotectores independientes de prostaglandinas

Esta protección incluye sustancias citoprotectoras que no estimulan la biosíntesis de prostaglandinas en la mucosa gástrica. Entre estos compuestos se encuentran grupos sulfhidrilo, factores de crecimiento epidérmico, somatostatina, meciadanol y algunos antibióticos.

2.3.4.1 Grupos sulfhidrilo

En 1981 Szabo reportó que los compuestos que contienen grupos sulfhidrilo protegen a las ratas de las erosiones inducidas por etanol. De estas observaciones se deduce que los grupos sulfhidrilo son citoprotectores de la

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

mucosa gástrica y que puede mediar en la citoprotección inducida por prostaglandinas. Los grupos sulfhidrilo son requeridos para síntesis de prostanoïdes y para la actividad 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 adhesión de las células (Szabo et al., 1981; Kontureck et al., 1987, Shorrock y Ress, 1988).

2.3.4.2 Factor de crecimiento epidérmico

El factor de crecimiento epidérmico es un polipéptido producido por las glándulas salivales y de Brunner. Estimula la síntesis del ARN y ADN en la mucosa, además favorece el crecimiento, la diferenciación celular y acelera la reparación de la mucosa. Es un poderoso inhibidor de la secreción ácida gástrica pero a dosis no antisecretoras ha mostrado que protege al estómago de erosiones agudas producidas por ácido acetilsalicílico, se ha demostrado que es tan efectivo como la cimetidina en la curación de 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 Ress, 1988; Allen *et al.*, 1992)

Se ha encontrado que fármacos antiulcerosos tales como el sucralfato y bismuto coloidal enlazan el factor de crecimiento epidérmico y lo transportan al área ulcerada (Kontureck, 1998).

2.3.4.3 Meciadanol

El meciadanol es un inhibidor de la actividad de la histamina descarboxilasa, tiene una potente acción gastroprotectora contra el daño producido por etanol y

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

ácido acetilsalicílico lo que puede deberse a la disminución de la formación de histamina en la mucosa (Kontureck, 1990).

2.3.4.4 Sulglicótido

El sulglicótido es un glicopéptido en forma de sal sódica. Este se comporta como un agente que cubre la mucosa y su acción citoprotectora parece estar relacionada a la estimulación de la producción de prostaglandinas gastrointestinales e intervienen en el mecanismo de estabilización de la estructura lisosomal en las células de la mucosa (Brunton, 1996).

2.3.4.5 Alginato

El alginato es un compuesto capaz de poner una barrera mecánica al reflujo esofágico del contenido gástrico ácido. La actividad terapéutica de los alginatos, deriva en una transformación local de la suspensión de este polímero que protege mecánicamente a la mucosa gástrica de lesiones inducidas por ácido clorhídrico, reduce la acidez del jugo gástrico y evita el reflujo esofágico (De Vicentis *et al.*, 1991).

2.3.5 Mecanismos de Gastroprotección

En general, los mecanismos de la mucosa gástrica, para la protección 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 motilidad son acciones funcionales; la síntesis, secreción de prostaglandinas y la liberación de óxido nítrico (NO) son funciones humorales. La

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

sensibilidad de las neuronas a la capsaicina desencadena acciones neuronales. (Tsukimi y Okabe, 2001).

2.3.5.1 Factores funcionales

La secreción de bicarbonato a través de la mucosa gastrointestinal forma parte de la barrera moco-bicarbonato del estómago, éste neutraliza el ácido que se encuentra en la mucosa gástrica y duodeno, por consecuencia contribuye 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). Además, en sí el moco participa en la protección de la mucosa 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, esta participa en la disminución del daño gástrico causado por el ácido en el estómago y duodeno.

Además la motilidad juega un papel importante en la prevención de lesiones provocadas por estrés, así como, por los fármacos anti-inflamatorios no esteroideos (Tsukimi y Okabe, 2001). Meersereau en 1982, fue el primero que reporto la importancia de la hipermotilidad del estómago en la génesis de las lesiones gástricas en respuesta a los AINEs. La amplitud de las contracciones y la restricción temporal del flujo sanguíneo de la mucosa provocadas por los AINEs reducen la resistencia de la mucosa gástrica.

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

Por otra parte se ha observado un incremento en la afluencia sanguínea de la mucosa gástrica después de un tratamiento con irritantes suaves que es inhibida con indometacina y que la administración previa de N-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME) da como resultado un empeoramiento de las lesiones provocadas por irritantes, lo cual sugiere que la microcirculación tiene un papel muy importante en la protección de la mucosa gástrica.

2.3.5.2 Factores neuronales

Las neuronas sensoriales 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 observado 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).

2.3.5.3 Factores humorales

Se ha observado que los niveles de las PGs en la mucosa se incrementan después de la administración de los llamados irritantes suaves. La protección proporcionada por los irritantes suaves es eliminada casi en su totalidad por indometacina, esto lleva a la conclusión de que los irritantes suaves protegen a la mucosa gástrica por estimulación de la COX1 y liberación de PGs al estómago

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

(Tsukimi Y Okabe, 2001). En contraste la COX2 se considera como responsable de la producción de PGs en los sitios inflamados (Gretzer *et al.*, 1998).

Se ha descrito que los agentes liberadores de NO, tales como nitroglicerina y nitroprusiato de sodio inhiben los daños hemorrágicos de la mucosa gástrica inducidos por HCl 50 mM o etanol al 70%. Por el contrario, los inhibidores de la óxido nítrico sintetasa (SON) tales como NG-nitro-L-arginina (L-NA) y el 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 (Tsukimi y Okabe 2001).

2.4 Principios activos aislados de plantas con actividad antiulcerosa

2.4.1 Flavonoides

Los flavonoides son un grupo de cerca de 4000 compuestos naturales con un amplio rango de efectos terapéuticos, incluyendo actividad gastroprotectora. Varios mecanismos se han propuesto para explicar los efectos gastroprotectores de los flavonoides; incluyendo el incremento en el contenido de prostaglandinas en la mucosa, disminución de la secreción de histamina por inhibición de histamina descarboxilasa e inhibición del crecimiento de *Helicobacter pylori*, además de atribuírseles el efecto de atrapar radicales libres, los cuales juegan un papel importante dentro de la erosión y la úlcera en el tracto gastrointestinal. Por su baja toxicidad y sus amplias propiedades reportadas se pronostica que los flavonoides son 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).

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

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 (Borrelli e Izoo, 2000). El flavonoide (-) 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.*, 2001).

2.4.2 Saponinas

Las saponinas se encuentran ampliamente distribuidas en las plantas y de forma particular como glucósidos. De acuerdo con su estructura de aglicona o sapogenina, se reconocen dos tipos de saponinas; esteroidales o tipo triterpenoide (Borrelli e Izoo, 2000).

Varias plantas contienen grandes cantidades de saponinas por lo que presentan actividad antiulcerosa en varios modelos experimentales de úlcera: las saponinas aisladas de *Panas japonicus* y del fruto de *Kochia scoparia* han demostrado poseer propiedades gastroprotectoras, dicha actividad no es debida a la inhibición de la secreción de ácido gástrico, sino que probablemente se deba a la producción de moco y de factores protectores de la membrana (Borrelli e Izoo, 2000).

2.4.3 Taninos

Los taninos son utilizados en la terapéutica por sus propiedades astringentes, son capaces de alterar la capa exterior de la mucosa logrando disminución de la

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

permeabilidad y aumentando la resistencia al daño o irritación por agentes químicos, sin embargo, la correlación entre la estructura molecular de los taninos y la actividad astringente/antiulcerosa es poco conocida (Borrelli e Izoo, 2000).

Las altas concentraciones de taninos causan coagulación de las proteínas de la capa profunda de la mucosa, dando como resultado inflamación, diarrea y vómito.

Varias plantas con actividad anti-ulcerosa contienen taninos. El extracto crudo de *Linderae umbellatae* exhibió actividad anti-péptica y anti-ulcerosa, estos efectos pueden estar relacionados con la presencia de taninos.

2.4.4 Gomas y mucílagos

Las gomas y mucílagos son compuestos quebradizos, amorfos, transparentes o traslúcidos, que absorben agua fácilmente formando masas gelatinosas o soluciones coloidales viscosas. Los fármacos mucilaginosos tienen la propiedad de cubrir y proteger la mucosa del estómago por lo que son usados para el tratamiento de la úlcera gástrica, ejemplos de plantas que contienen mucílagos son: *Althaea officinalis*, *Cetraria islandica*, *Malva silvestres*, *Matricaria chamomilla* y distintas especies de *Aloe sp.*

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 un polisacárido. La goma guar incrementa la velocidad de recuperación cuando se induce el 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

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

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.

2.4.5 Alcaloides

La atropina, aislada de *Atropia Belladonna*, fue utilizada como antiulcerosa (Pendleton *et al.*, 1987). Por su acción antisecretora, por inhibir la acción de la acetilcolina. Además de estos muchos otros alcaloides como la escopolamina, anisodina, anisodanina, aislados de la *scopolia*, son efectivos agentes antiulcerosos en distintos modelos de úlcera. Dichos alcaloides pueden inhibir la secreción de ácido, y la actividad de la pepsina e incrementar la barrera de la mucosa. (Zhang *et al.*, 1990).

De la raíz de *Sophora subprostrata* se ha aislado a la matrina y a la oximatrina. Estos alcaloides tambien inhiben la secreción gástrica en ratas a una dosis de 10-50 mg/Kg e inhiben la formación de úlcera a 250 mg/Kg (Yamazaki, 1983).

2.4.6 Aceites

El aceite de *Hyptis mutabilis* Briq posee un efecto gastroprotector en ratas sobre lesiones inducidas por indometacina administrada por vía subcutánea, el mecanismo de acción de este aceites es desconocido (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, ácido acetilsalicílico, estrés y úlcera gástrica crónica por ácido acético en ratas (Xue *et al.*, 1996)

2.4.7 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 ácido acetilsalicílico, indometacina, reserpina y tetragastrina. La ácido acetilsalicílico 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 ocymifolia*, el tarexesol aislado de *Taraxacum officinale* y el ácido ursólico aislado de *Psychotria adenophylla*, dichos triterpenos inhiben o reducen las úlceraciones por estrés en ratas (Gupta *et al.*, 1981; Snykers y Fourie, 1989). Del extracto metanólico de la corteza de *Amphytergium adstringens* se aislaron e identificaron el ácido 3α -hidromasticadienónico, 3-epi-oleanólico y al β -sitosterol como los componentes responsables de la acción gastroprotectora de esta planta medicinal en el modelo de inducción de lesiones gástricas por etanol absoluto (Navarrete *et al.*, 1990; Arrieta *et al.*, 2003). De la corteza de la raíz de *Hippocrate excelsa* se aislaron e identificaron al sitosterol-3- α - β -glucosido, 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.*, 2001). El β -lupeol aislado de *Pseudobombax ellipticum* (Mocoque) presenta actividad antiulcerosa, en cuyo mecanismo de acción participan de manera importante las prostaglandinas y los grupos sulfhidrilo, en tanto que el óxido nítrico está parcialmente involucrado (Sandoval, 2004). En contraste el glicósido triterpénico astragalosido IV aislado de *Astragalus*

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

zahlbruckneri, presentó actividad gastroprotectora y el óxido nítrico participa de manera importante en su mecanismo de acción (Navarrete et al., 2005).

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Dentro de la medicina tradicional mexicana la planta *Lp* goza de una gran aceptación para afecciones en el sistema respiratorio y un amplio uso en infecciones bacterianas; de menor forma se recomienda para la indigestión estomacal y el dolor asociado a principios de úlcera. Sin embargo, no se ha demostrado que el *Lp* posea actividad gastroprotectora.

Lo anterior condujo a plantear la necesidad de realizar el estudio de la actividad gastroprotectora de los extractos de *Lp* y del compuesto DGS, uno de los principales dímeros del Z-LGS. Conjuntamente se indagará si los grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y el óxido nítrico se encuentran involucrados en el mecanismo de acción.

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

IV. HIPÓTESIS

Se espera que los extractos de la planta *Lp* presenten actividad gastroprotectora y que el DGS sea el componente responsable del efecto gastroprotector. Igualmente será posible determinar el grado de participación de las prostaglandinas, el óxido nítrico y de los grupos sulfhidrilos en su mecanismo de acción

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

V. OBJETIVO

Determinar el efecto gastroprotector de los extractos de *Lp* y de DGS, uno de los componentes principales de esta planta medicinal. Así mismo, evaluar el grado de participación de los grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción, utilizando el modelo de inducción de daño gástrico con etanol en rata wistar.

VI. METODOLOGÍA

6.1 Aparatos

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Jones Modelo II 684. Los espectros de RMN ^1H , ^{13}C se efectuaron en un Espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear Varian Modelo Unity INOVA 300 o 400MHz. Los espectros en el IR se obtuvieron en pastilla de KBr y se midieron en un espectrómetro Perkin Elmer 59913. Los espectros de masas por impacto electrónico se obtuvieron utilizando un espectrómetro JEOL SX 102 mediante inyección directa con una energía de ionización de 70eV.

6.2 Animales

Se utilizaron ratas macho wistar con un peso de 180-220 g, procedentes del centro UNAM-Harlan (Harlan México S.A de C.V), que se trataron según la NOM-062-ZOO-1999 (Especificaciones técnicas para la producción, cuidados y usos de animales de laboratorio). Los animales se colocaron en jaulas individuales con piso de malla para evitar la coprofagia, privándolos de alimento 24 horas antes del experimento y permitiéndoles el libre acceso al agua. Todos los experimentos se realizaron con grupos formados por seis a ocho ratas.

6.3 Extractos de *Lp*

Un kilogramo de raíces secas y molidas se fraccionaron en cuatro partes (250 g), las cuales se maceraron con 750 mL, en cada uno de los siguientes disolventes: acetona, diclorometano, hexano y metanol durante 72 horas. Los extractos

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

obtenidos se concentraron a presión reducida en un evaporador rotatorio. Este procedimiento se repitió tres veces continuas.

6.4 Decocción de *Lp*

20g de raíces secas y molidas de *Lp* en 500 mL de agua destilada se calentaron a ebullición por 10 minutos. La decocción resultante se concentró a temperatura ambiente con una corriente de aire colocándola en pequeñas porciones en forma de capas delgadas.

6.5 Extracción del DGS.

Los extracto de diclorometano y hexano, que presentaron el mayor efecto gastroprotector y la presencia de un componente mayoritario común, se adsorbieron en una proporción 1:1 con silica gel 60 (0.063-0.2 mm), inmediatamente se realizó una percolación (separación gruesa) por cromatografía en columna abierta fase normal, con un lecho cromatográfico en proporción 1:3, se utilizaron diferentes gradientes de la mezcla de hexano-acetato de etilo y se colectaron fracciones de 500 mL. La fracción donde se encontró mayoritariamente el DGS fue nuevamente adsorbida y separada de la misma forma, pero con un lecho en proporción 1:10, y con más gradientes del sistema de elusión, colectándose fracciones de 20 mL. La identificación del compuesto se realizó por resonancia magnética nuclear de hidrógeno, Carbono 13, espectroscopia de infrarrojo y por espectrometría de masas, además del punto de fusión. Diagrama 1.

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

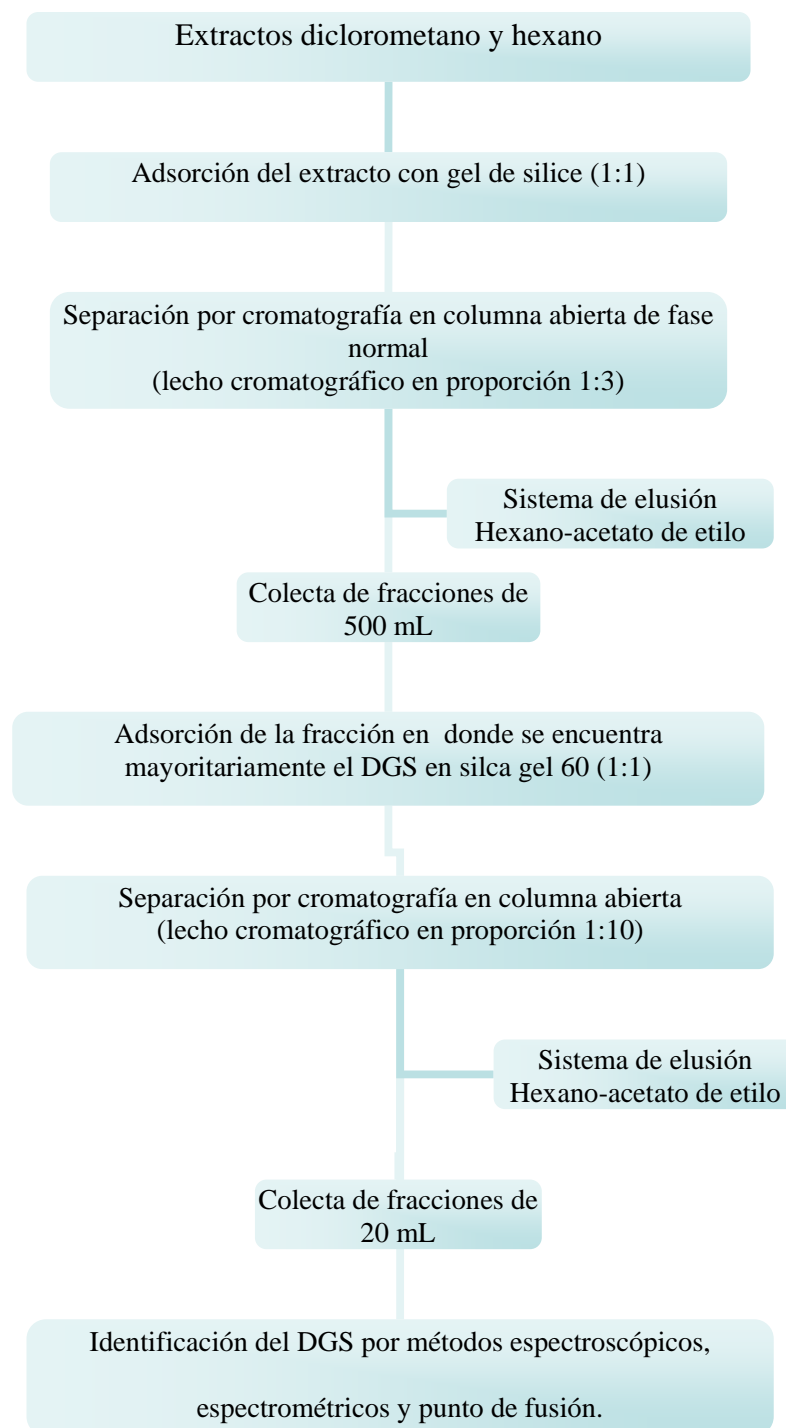


Diagrama 1. Extracción de DGS

6.6 Compuesto, fármacos y dosificación

El DGS (aislado de *Lp*) se suspendió en Tween 80 al 0.5% y se administró intragástricamente a la dosis requerida momentos antes de cada experimento. La indometacina (98% de pureza) se disolvió en una solución de NaCl al 0.9% y NaHCO₃ al 5% (Wan y Gottfried, 1985) administrándose vía subcutánea a una dosis de 10 mg/kg. El éter metílico de N^G-nitro-L-arginina (L-NAME, 98% de pureza) se disolvió y aplicó vía intraperitoneal a una dosis de 70 mg/kg. La N-etilmaleimida (NEM, 98% de pureza) se solubilizó en una solución de NaCl al 0.9% y se suministró vía subcutánea a una dosis de 10 mg/kg. Todos los fármacos se adquirieron de Sigma-Aldrich Corporation.

6.7 Determinación del índice de úlcera

Las lesiones gástricas fueron inducidas de acuerdo al método descrito por Robert (1979), por la administración intragástrica de 1 mL de etanol absoluto. Después de administrar el compuesto de prueba y del tiempo determinado, los animales fueron sacrificados, por sobredosis de éter etílico, de forma inmediata los estómagos se disectaron y se llenaron con 10 mL de formol al 2%, una vez llenos se colocaron en un recipiente que contenía la misma sustancia con que fueron llenados, después de 15 minutos, los estómagos fueron abiertos por la curvatura mayor y se colocaron de forma extendida bajo un microscopio esteroscopio (X10) provisto con un micrómetro ocular. Se calculó el área de las lesiones (mm²) en el cuerpo del estómago, para determinar el índice de úlcera (IU) (Navarrete *et al.*, 1998).

6.8 Determinación de la gastroprotección del los extractos de *Lp*

Un lote de 30 ratas se dividió en 5 grupos de seis animales que se nombraron: vehículo, tratamiento 1, 2, 3 y 4. Al lote tratado con vehículo se le suministró Tween 80 al 0.5% oralmente. En cuanto a los tratamientos, se les administró por vía intragástrica 100 mg/kg de los siguientes extractos: acetona, diclorometano, hexano y metanol, suspendidos en Tween 80 al 0.5%, de tal forma que al tratamiento 1, se le aplicó el extracto de acetona y así sucesivamente. Transcurridos 30 minutos y de forma oral se aplicó un mililitro de etanol absoluto independientemente del peso. Dos horas más tarde se sacrificaron los animales por sobredosis de éter, inmediatamente se procedió a la a disección del estómago y fijación con formaldehído al 2 %, pasados 15 minutos se procedió a determinar el índice de úlcera (IU) (Arrieta *et al.*, 2006), Diagrama 2.

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrido, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

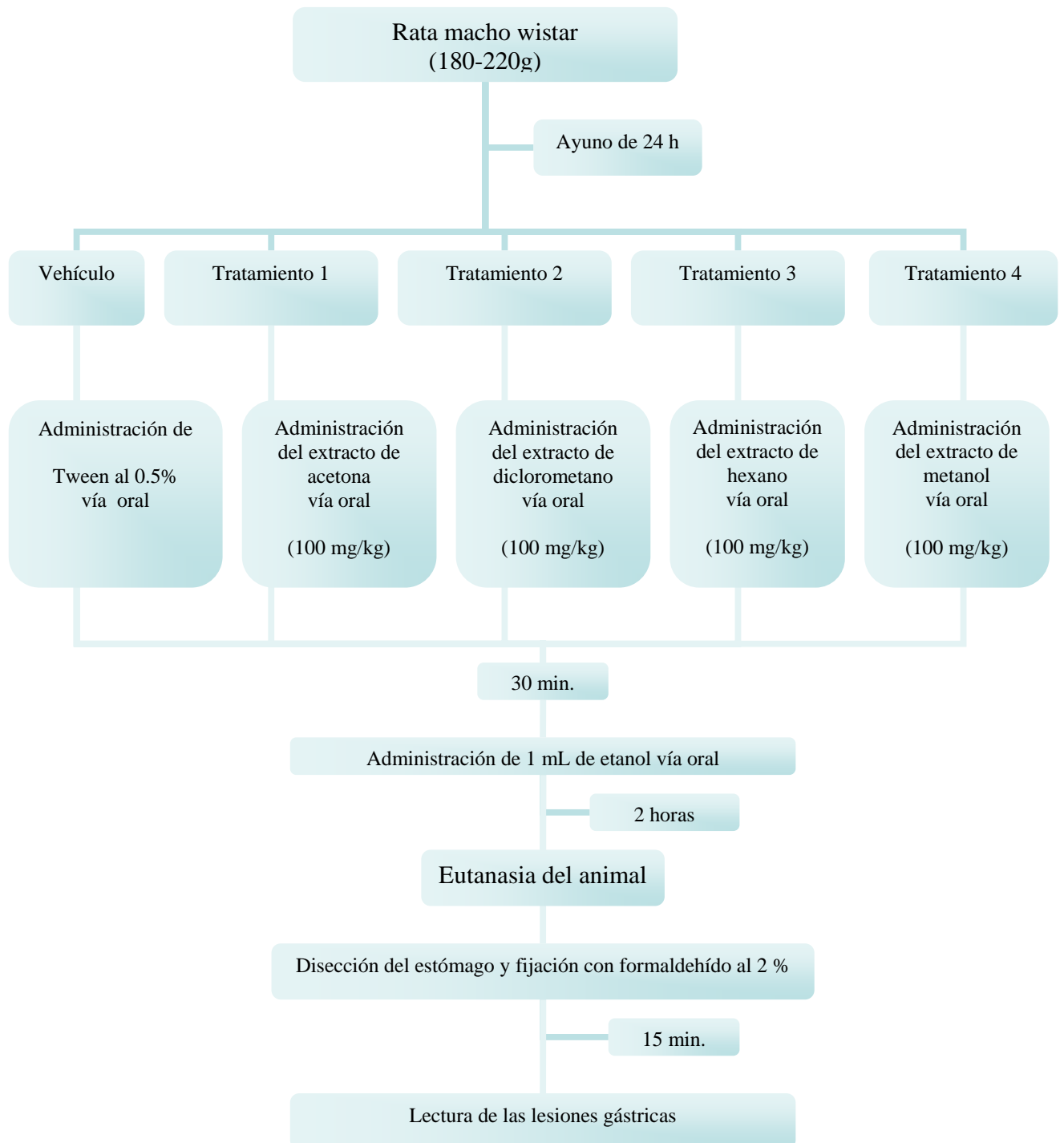


Diagrama 2. Determinación de la gastroprotección de los extractos de *Lp*.

6.9 Determinación del efecto gastroprotector de DGS

Un lote de 24 ratas se dividió en 4 grupos de seis animales que se nombraron: vehículo, tratamiento 1, 2 y 3. Al lote tratado con el vehículo se le suministró Tween 80 al 0.5% oralmente. En cuanto a los tratamientos se les administró por vía intragástrica 10, 100 y 300 mg/kg respectivamente de DGS suspendidos en Tween 80 al 0.5%. Transcurridos 30 minutos y de forma oral se aplicó un mililitro de etanol absoluto indistintamente del peso. Dos horas más tarde se sacrificaron los animales por sobredosis de éter, inmediatamente se procedió a la a disección del estómago y fijación con formaldehído al 2 %, pasados 15 minutos se procedió a determinar el índice de úlcera (IU) (Arrieta *et al.*, 2006), Diagrama 3.

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrido, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

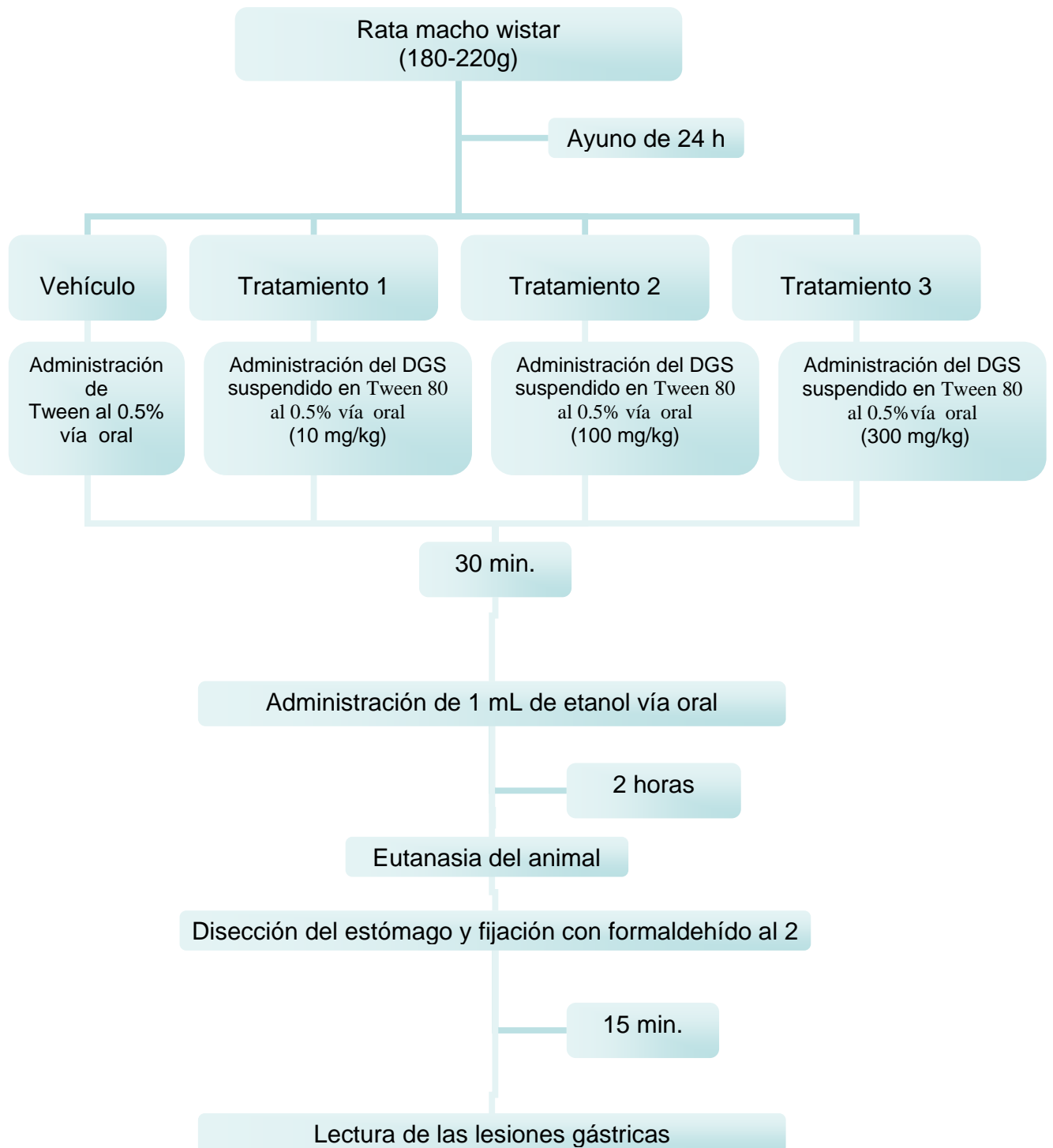


Diagrama 3. Efecto gastroprotector de DGS.

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

6.10 Determinación de la participación de prostaglandinas en el mecanismo de acción del DGS

Un lote de 28 ratas, se dividió en 4 grupos de siete animales, los cuales se nombraron: vehículo, control, tratamiento 1 y 2. Al lote tratado con vehículo y tratamiento 1, se le administró NaCl 0.9% y NaHCO₃ al 5% subcutáneamente, en el control y tratamiento 2 se aplicó por la misma vía la indometacina disuelta en una solución de NaCl 0.9% y NaHCO₃ al 5% (Wan y Gottfried, 1985) a una dosis de 10 mg/kg. Después de 75 minutos, al vehículo y control se les suministró Tween 80 al 0.5% intragástricamente, en el caso del tratamiento 1 y 2 por la misma vía se administró una dosis de 10 mg/kg de DGS suspendido en Tween 80 al 0.5%, pasados 30 minutos y de forma oral se aplicó un mililitro de etanol independientemente del peso. Dos horas más tarde se sacrificaron los animales por sobredosis de éter, inmediatamente después se procedió a la disección del estómago y la fijación con formaldehído al 2%. Pasados 15 minutos se procedió a determinar el índice de úlcera (IU) (Arrieta *et al.*, 2006), Diagrama 4.

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

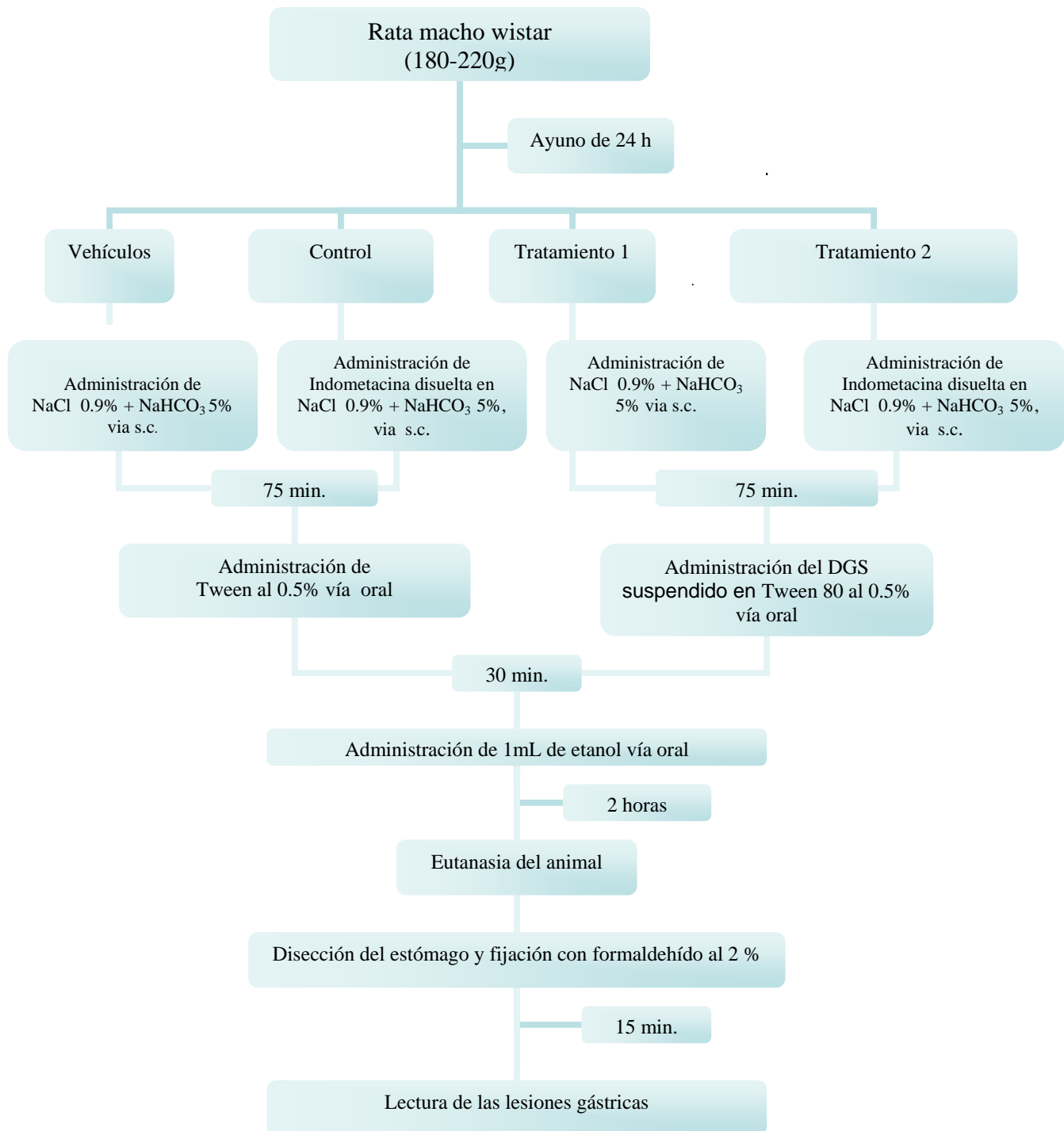


Diagrama 4. Determinación de la participación de prostaglandinas en el mecanismo de acción de DGS

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

6.11 Determinación de la participación del óxido nítrico en el mecanismo de acción del DGS

Un lote de 28 ratas, se dividió en 4 grupos de siete animales los cuales se nombraron: vehículo, control, tratamiento 1 y 2. Al lote tratato con el vehículo y tratamiento 1, sólo se le administró NaCl 0.9% intraperitonealmente, en el control y tratamiento 2 se aplicó por la misma vía el L-NAME disuelto en NaCl 0.9% a una dosis de 70 mg/Kg, (Matsuda et al., 1999). Después de 30 minutos al vehículo y al control se les suministró Tween 80 al 0.5% intragástricamente, en el caso del tratamiento 1 y 2 por la misma vía se administró una dosis de 10 mg/kg de DGS suspendido en Tween 80 al 0.5%, pasados 30 minutos y de forma oral se aplicó un mililitro de etanol independientemente del peso. Dos horas más tarde se sacrificaron los animales por sobredosis de éter, inmediatamente se procedió a la disección del estómago y la fijación con formaldehído al 2%. Pasados 15 minutos se procedió a determinar el índice de úlcera (IU) (Arrieta *et al.*, 2006), Diagrama 5.

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrido, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

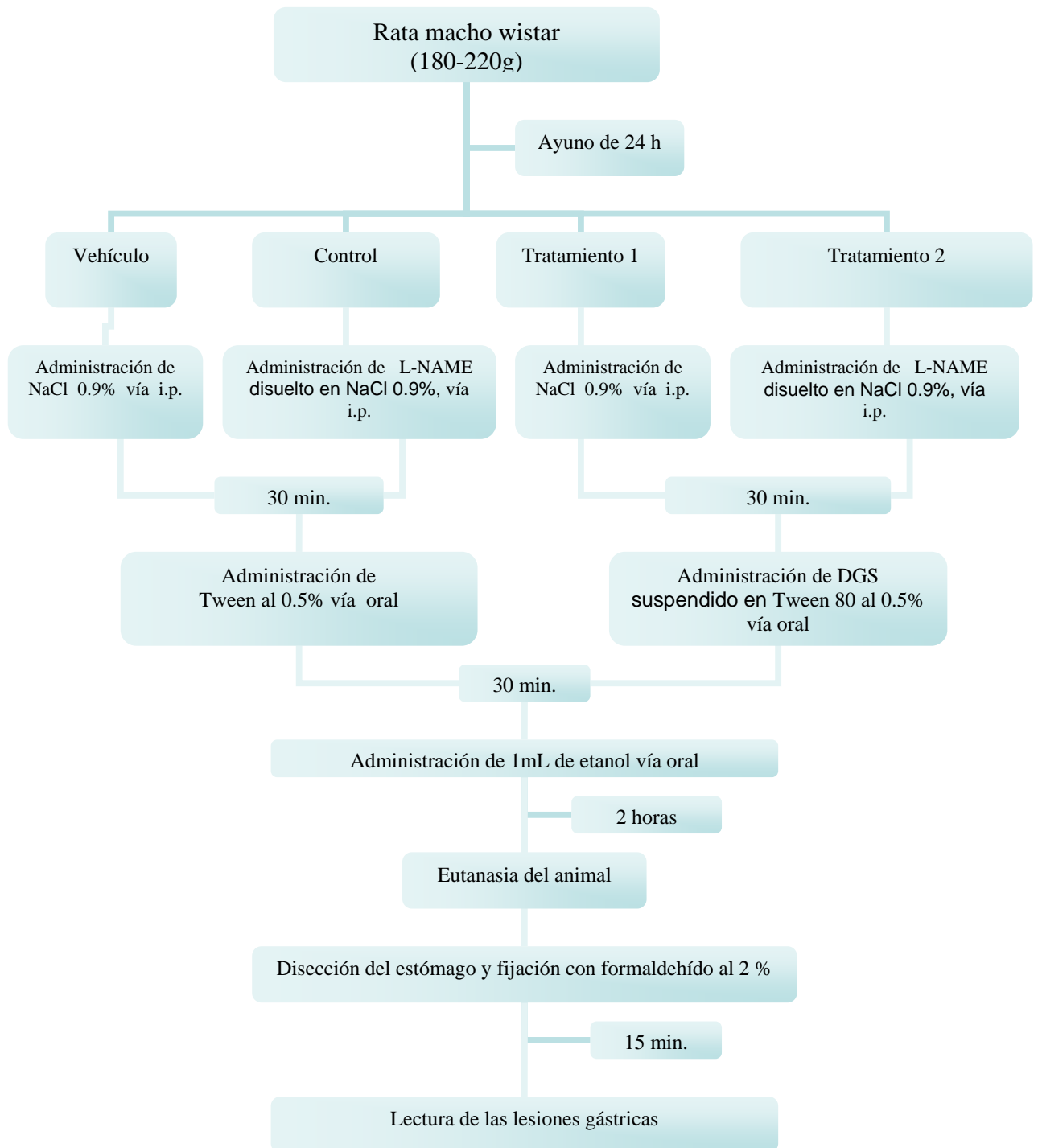


Diagrama 5. Determinación de la participación del óxido nítrico en el mecanismo de acción de DGS.

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

6.12 Determinación de la participación de los grupos sulfhidrilo en el mecanismo de acción de DGS

Un lote de 28 ratas, se dividió en 4 grupos de siete animales, los cuales se nombraron: vehículo, control, tratamiento 1 y 2. Al vehículo y tratamiento 1, sólo se le administró NaCl 0.9% subcutáneamente, en el control y tratamiento 2 se aplicó por la misma vía el *N-etilmaleimida* disuelta en una solución de NaCl 0.9% a una dosis de 10 mg/kg, (Matsuda et al 1999). Después de 30 minutos al vehículo y al control se les suministró Tween 80 al 0.5% intragástricamente, en el caso del tratamiento 1 y 2 por la misma vía se administró una dosis de 10 mg/kg de DGS suspendido en Tween 80 al 0.5%, pasados 30 minutos y de forma oral se aplicó un mililitro de etanol indistintamente del peso. Dos horas más tarde se sacrificaron los animales por sobredosis de éter, inmediatamente se procedió a la disección del estómago y la fijación con formaldehído al 2%. Pasados 15 minutos se procedió a determinar el índice de úlcera (IU) (Arrieta *et al.*, 2006), Diagrama 6.

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

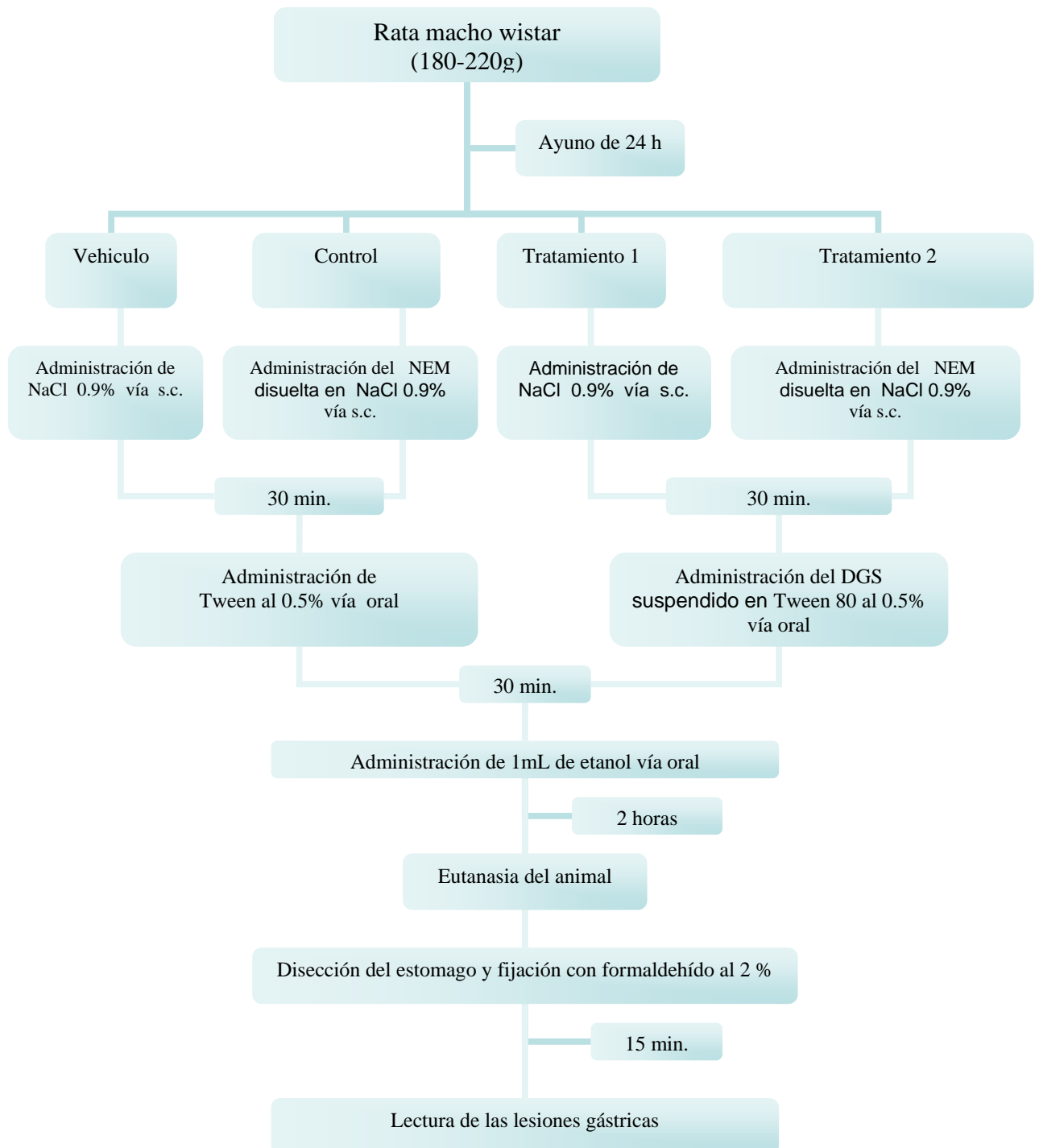


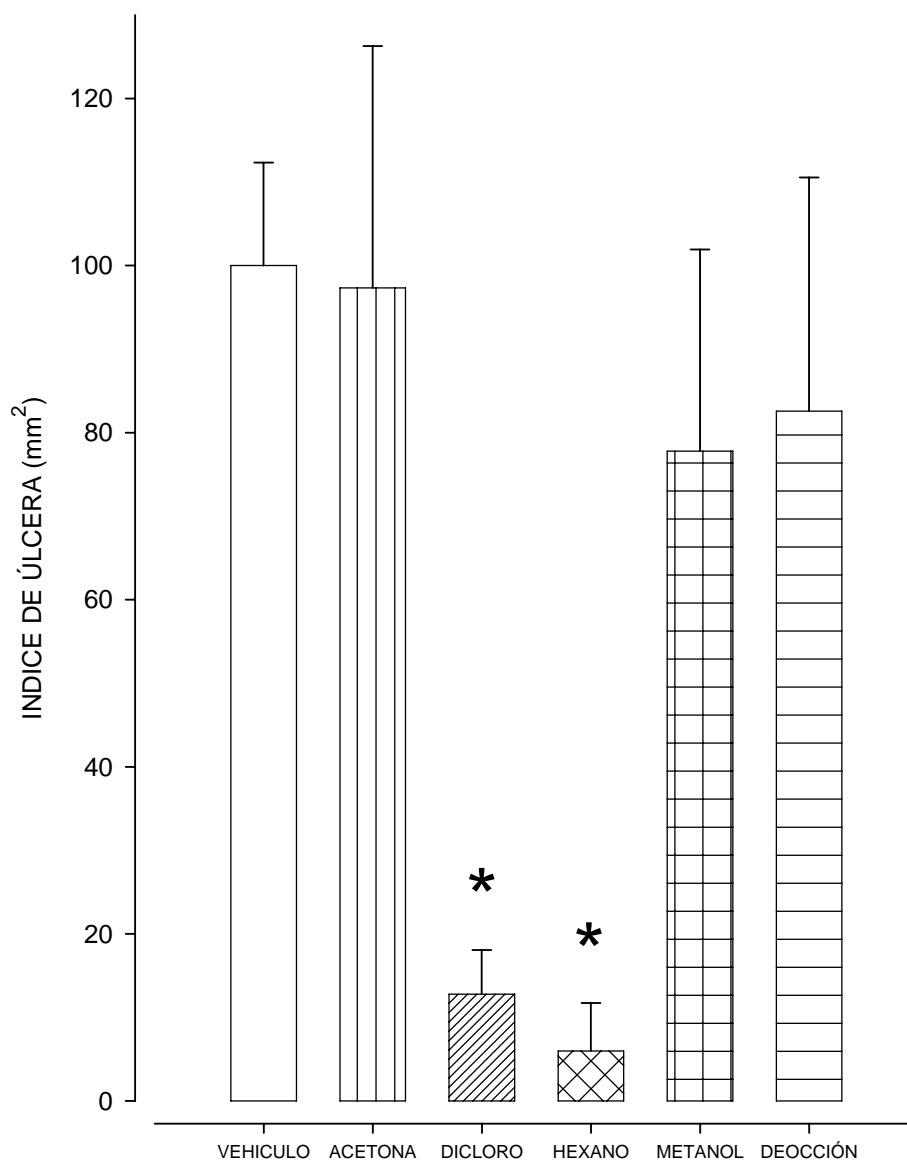
Diagrama 6. Determinación de la participación de los grupos sulfhidrilo en mecanismo de acción de DGS.

VII. RESULTADOS

Los extractos de diclorometano (IU = $12.78 \pm 5.26 \text{ mm}^2$) y de hexano (IU = $5.97 \pm 5.74 \text{ mm}^2$) prácticamente anularon el efecto del etanol para inducir daño gástrico ($P < 0.05$). De forma contraria los extractos de acetona (IU = $97.32 \pm 28.95 \text{ mm}^2$), metanol (IU = $77.76 \pm 24.15 \text{ mm}^2$) y la decocción de *Lp* (IU = $82.56 \pm 27.96 \text{ mm}^2$) no fueron significativamente diferentes ($P > 0.05$) con respecto al vehículo (IU = $99.39 \pm 12.32 \text{ mm}^2$). Aunado a esto, los extractos de hexano y diclorometano no fueron significativamente ($P > 0.05$) distintos entre sí (Gráfica 1). De estos extractos se separó el compuesto DGS como compuesto mayoritario. El DGS administrado de forma intragástrica (10-300 mg/kg) redujo las lesiones gástricas inducidas por etanol de forma dosis-dependiente: Las dosis de 10 (IU = $31.00 \pm 4.65 \text{ mm}^2$), 100 (IU = $6.41 \pm 2.88 \text{ mm}^2$) y 300 mg/Kg (IU = $1.72 \pm 0.621 \text{ mm}^2$) obtuvieron diferencias significativa ($P < 0.05$) cotejados contra el vehículo (IU = $96.75 \pm 8.40 \text{ mm}^2$) (Gráfica 2.)

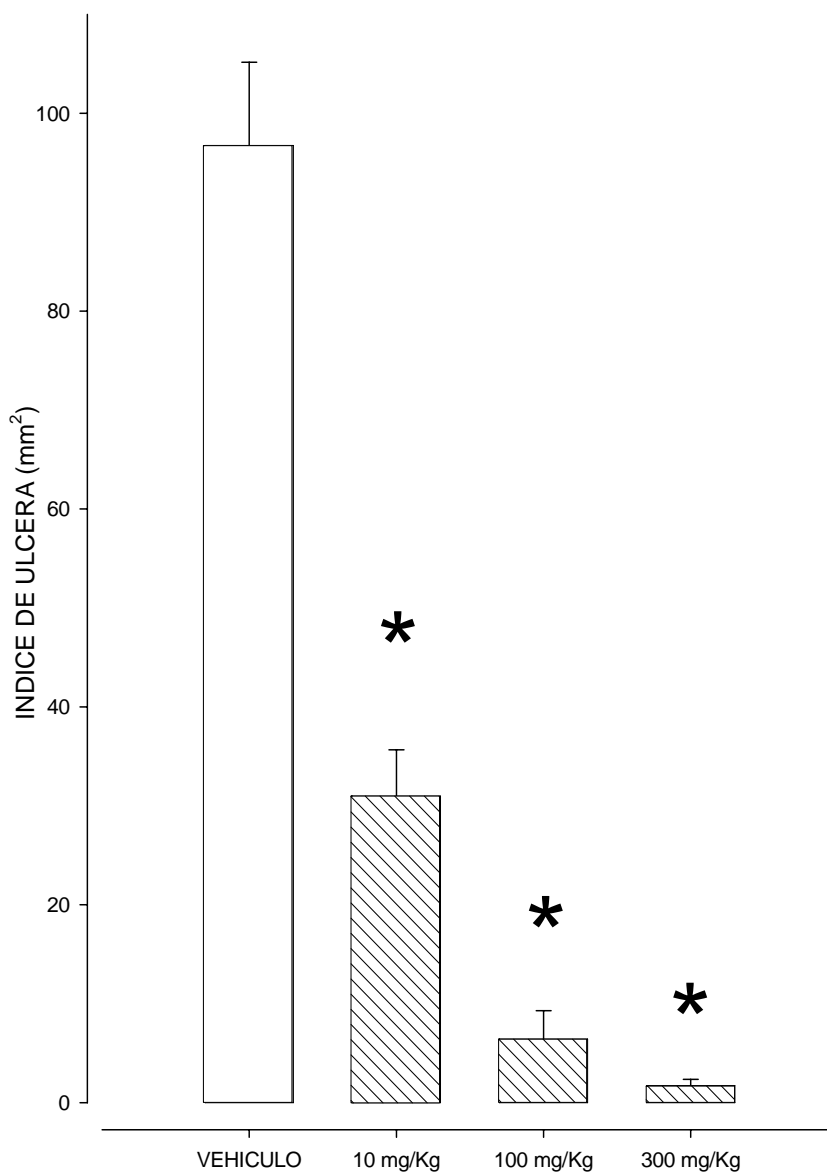
El DGS (10 mg/kg, p.o.) no inhibió las lesiones gástricas inducidas por etanol en ratas pretratadas con indometacina (IU = $97.3 \pm 10.59 \text{ mm}^2$; $P > 0.05$) en comparación con el grupo control de indometacina (IU = $103.27 \pm 11.89 \text{ mm}^2$), mientras que el grupo tratado solamente con DGS (IU = $33.25 \pm 10.33 \text{ mm}^2$) si presentó diferencia significativa ($P < 0.05$) al igual que con el grupo DGS pretratado con el fármaco (Gráfica 3).

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.



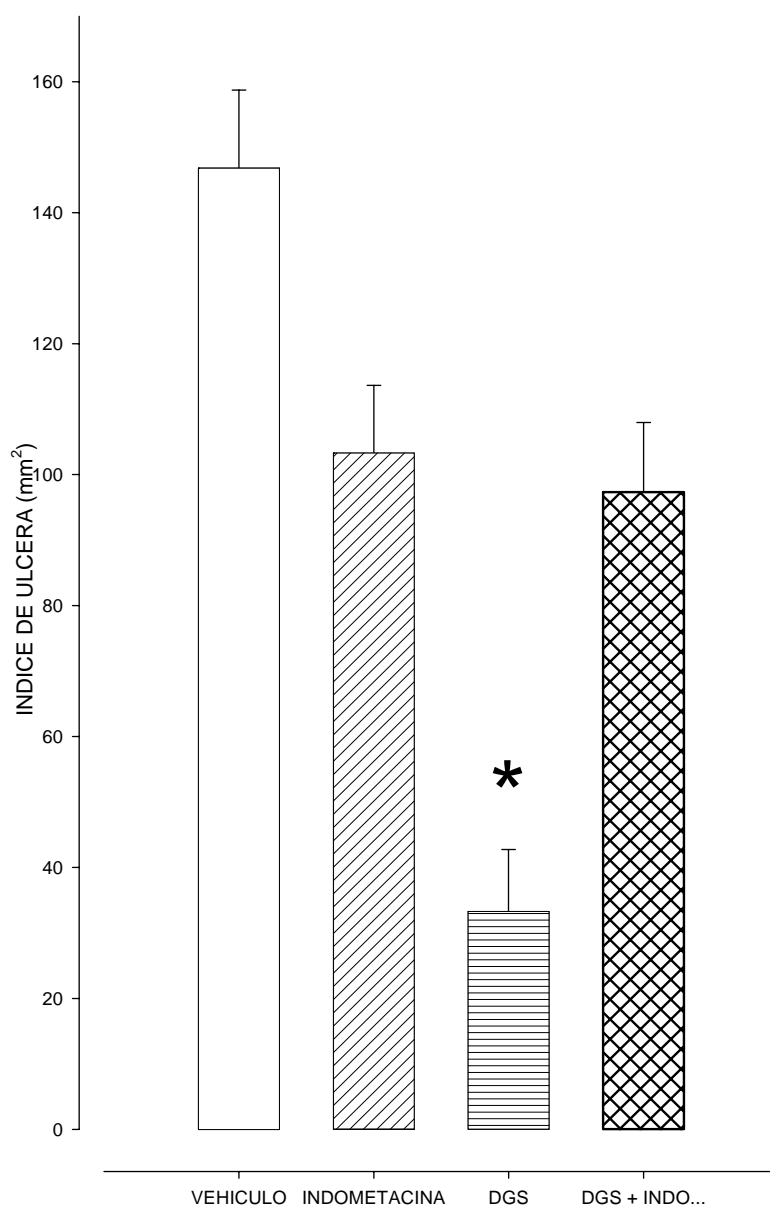
Gráfica 1. Efecto gastroprotector de los extractos y decocción de *Lp* (100 mg/Kg, p.o.) sobre lesiones gástricas inducidas por etanol absoluto en ratas. Cada barra representa el promedio \pm EEM, n = 6. *P < 0.05 en la prueba de comparación de medias de Dunnett, después de una prueba de ANADEV. Se observó diferencia significativa entre los extractos de diclorometano, y hexano en comparación con el vehículo.

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrido, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.



Gráfica 2. Efecto gastroprotector de diferentes dosis de DGS (10-300 mg/Kg, p.o.) sobre lesiones gástricas inducidas por etanol absoluto en ratas. Cada barra representa el promedio \pm EEM, n = 6. *P < 0.05 en la prueba de comparación de medias de Dunnett, después de una prueba de ANADEV. Se observó diferencia significativa entre el vehículo y las dosis de DGS.

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.



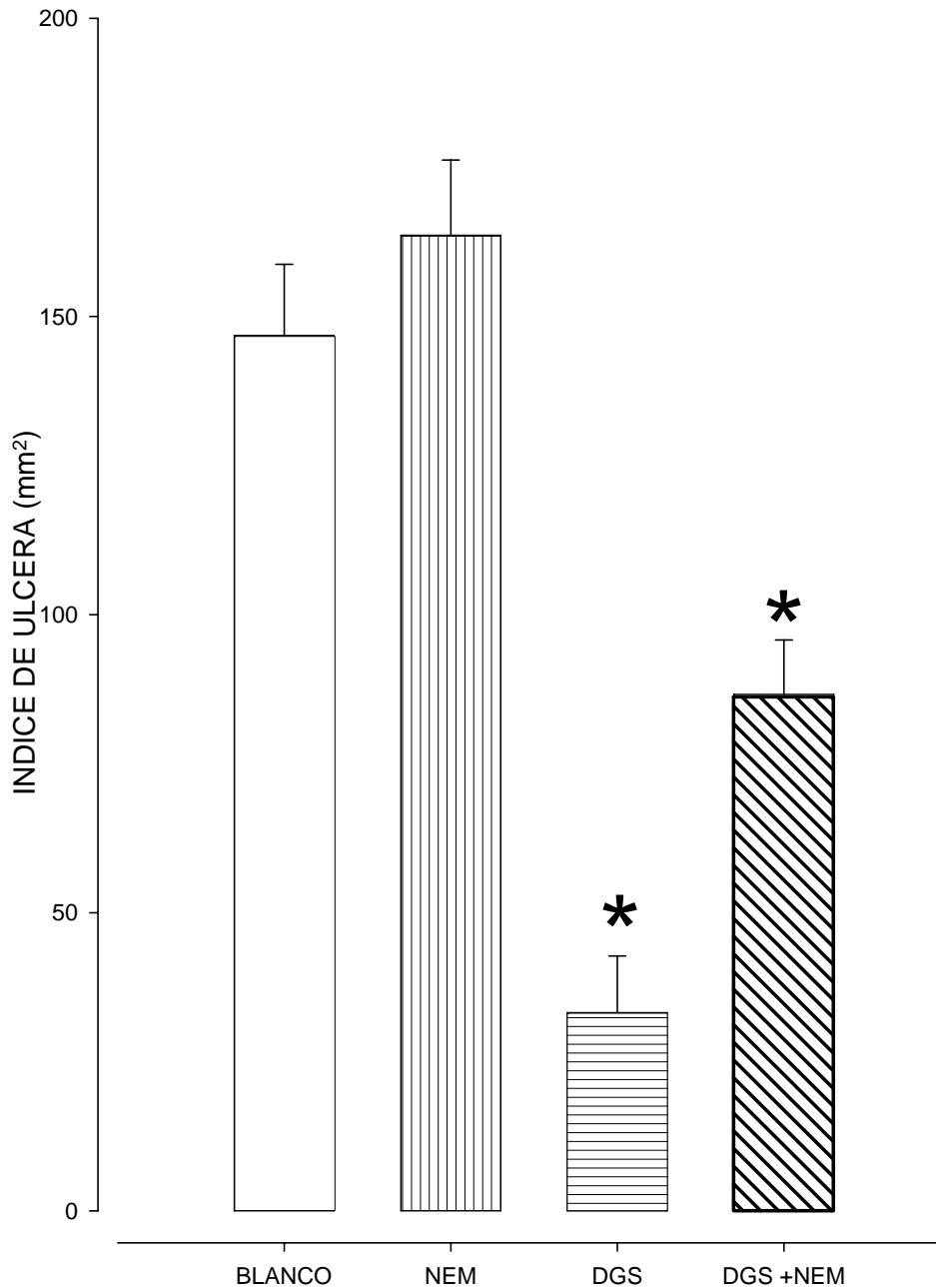
Gráfica 3. Efecto gastroprotector de DGS (10 mg/Kg, p.o.) sobre lesiones gástricas inducidas por etanol absoluto en ratas pretratadas con indometacina (10 mg/Kg, s.c.). Cada barra representa el promedio \pm EEM, n = 7. *P < 0.05 en la prueba de comparación de medias de Dunnett, después de una prueba de ANADEV. No se observó diferencia significativa entre el control y DGS ambos pretratados con indometacina.

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

El tratamiento con N-etilmaleimida (10 mg/Kg, s.c.) atenuó de forma parcial el efecto gastroprotector del DGS, ya que el grupo control NEM (IU = 163.63 ± 12.59 mm²), presentó diferencia significativa ($P < 0.05$), comparándolo contra el grupo DGS (IU = 33.25 ± 10.33 mm²) y DGS pretratado con NEM (IU = 86.61 ± 12.59 mm²). Aunado a esto el grupo tratado solamente con DGS, presentó diferencia ($P < 0.05$) con respecto al grupo control de N-etilmaleimida y al de DGS tratado previamente con NEM. Conjuntamente el vehículo y control de N-etilmaleimida, no fueron diferentes ($P > 0.05$) entre sí (Gráfica 4).

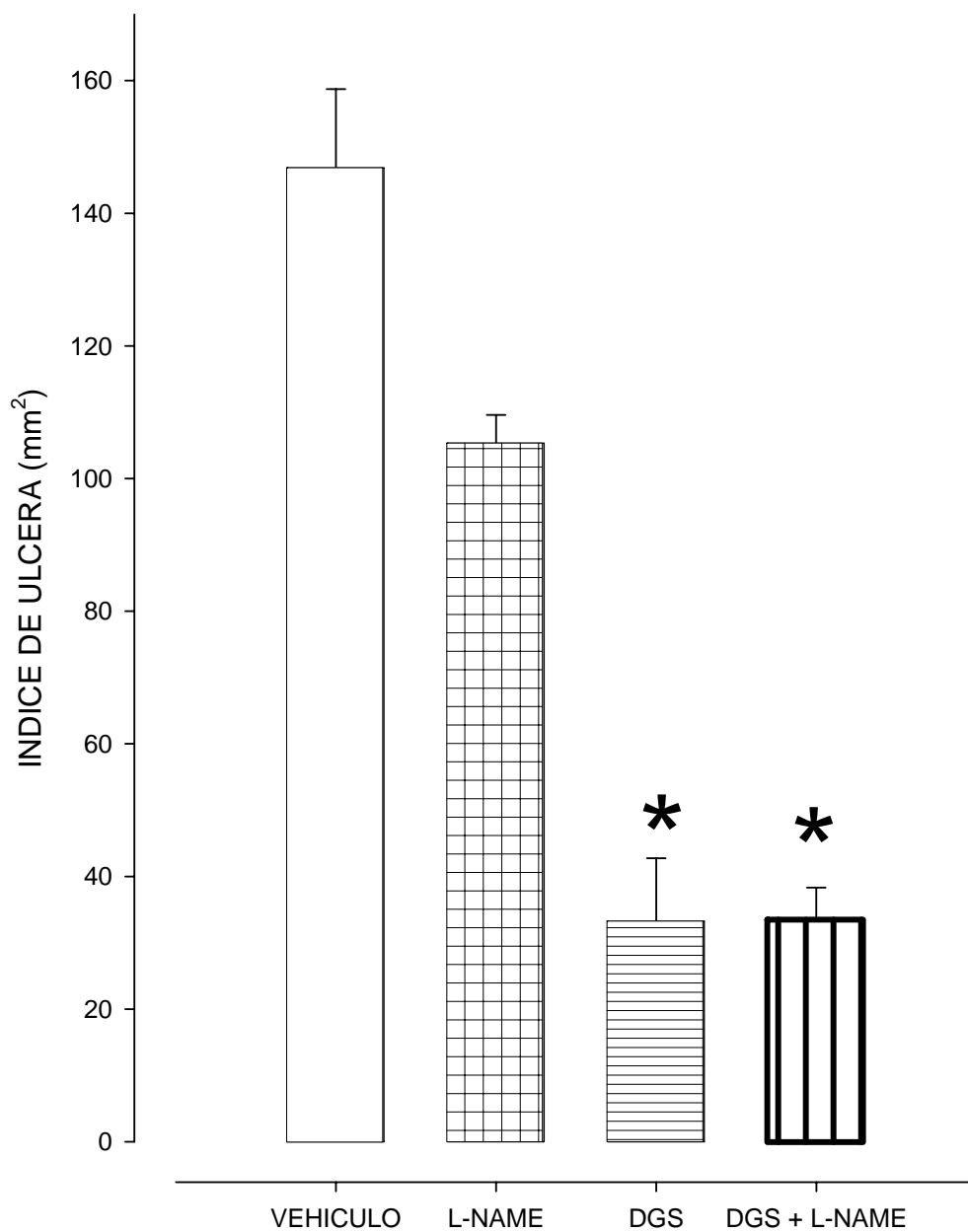
El efecto gastroprotector del DGS (IU = 33.25 ± 10.33 mm²), no resultó modificado con el tratamiento previo de L-NAME (IU = 33.51 ± 4.80 mm²) (Gráfica 5).

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrido, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.



Gráfica 4. Efecto gastroprotector de DGS (10 mg/Kg, p.o.) sobre lesiones gástricas inducidas por etanol absoluto en ratas pretratadas con NEM (10 mg/Kg, s.c.). Cada barra representa el promedio \pm EEM, n = 7. *P < 0.05 en la prueba de comparación de medias de Dunnett, después de una prueba de ANADEV. Se observó diferencia significativa entre el control y DGS ambos pretratados con NEM.

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.



Gráfica 5. Efecto gastroprotector de DGS (10 mg/Kg, p.o.) sobre lesiones gástricas inducidas por etanol absoluto en ratas pretratadas con L-NAME (70 mg/Kg, i.p.). Cada barra representa el promedio \pm EEM, n = 7. *P < 0.05 en la prueba de comparación de medias de Dunnett, después de una prueba de ANADEV. Se observó diferencia significativa entre el control y DGS ambos pretratados con L-NAME.

VII. ANÁLISIS DE RESULTADOS

En cuanto a los extractos de *Lp*, sólo los extractos de diclorometano y de hexano presentaron actividad gastroprotectora. En estos extractos se apreció la presencia de un compuesto mayoritario común que no apareció o apenas fue perceptible en los extractos de acetona y metanol, lo que hizo suponer que la actividad gastroprotectora se debía a este compuesto mayoritario. El aislamiento de ese compuesto mayoritario y su evaluación posterior, permitió confirmar lo anterior. El compuesto se identificó como DGS por espectroscopia de IR, RMN protónica y de ^{13}C , así como por espectrometría de masas, cuya estructura no se proporciona por las razones mencionadas en la nota inicial de esta tesis.

Con la administración del DGS se comprobó que el compuesto es el responsable de la actividad gastroprotectora, además que este muestra un comportamiento dependiente de la dosis en el rango evaluado (10-300 mg/kg).

En lo concerniente al mecanismo de acción se desprende que las prostaglandinas participan de manera importante, ya que con el pretratamiento de indometacina se perdió totalmente el efecto gastroprotector del compuesto DGS. Se ha demostrado que los compuestos que pierden su actividad con fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) en su mecanismo de acción gastroprotector participan de manera importante las prostaglandinas como es el caso de la carbenoxolona que promueve la biosíntesis de prostaglandinas o inhibe su metabolismo (Wan y Gottfried, 1985; Arrieta et al., 2003). Se ha comprobado que la propiedad citoprotectora de las prostaglandinas endógenas se debe a la modulación de los mecanismos de defensa de la mucosa. Dentro de estos mecanismos de defensa se

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

encuentra la motilidad, ya que la alta amplitud de las contracciones y la restricción temporal del flujo sanguíneo de la mucosa provocado por los AINEs reducen la resistencia de la mucosa (TsuKimi y Okabe, 2001). La hiperomotilidad inducida por lo AINEs está relacionada con la deficiencia de prostaglandinas provenientes de la COX1 (Tanaka et al., 2001). Está comprobado que la inhibición de biosíntesis de prostaglandinas provoca carencia de bicarbonato y moco gástrico que participa en la protección de la mucosa por la formación de una capa viscosa y un aumento del pH, que impide que el ácido difunda libremente hacia el tejido muscular (Takahaski et al., 1999; Tanaka et al., 2001). Aunado a esto se ha demostrado que la prostaglandina E₂ modula la secreción de ácido en el estómago a través del bloqueo del incremento de AMPc, el cual es requerido por la bomba intercambiadora H⁺/K⁺ (Atay et al., 2000).

La N-etilmaleimida, un bloqueador de los grupos sulfhidrilo, atenuó de forma parcial el efecto gastroprotector del DGS, lo que sugiere que en el mecanismo de acción de este compuesto, participan de forma parcial los grupos sulfhidrilos. Está perfectamente comprobado que los compuestos que contienen grupos sulfhidrilo protegen a la mucosa de lesiones inducidas por etanol absoluto en ratas (Szabo et al., 1985). 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 dos horas por el incremento de la permeabilidad de la mucosa, causando hiperemias focales, hemorragias y daño vascular en los capilares cercanos a la superficie luminal (Chandranath et al., 2002) . Los grupos sulfhidrilo contrarestan estos daños ya que son directamente responsables de la

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

defensa de la mucosa ya que influyen en la permeabilidad de la membrana y atrapamiento de radicales libres (Szabo et al., 1985; Kontureck et al., 1990; Maity et al., 1998). De estas observaciones se deduce que los grupos sulfhidrilo son citoprotectores de la mucosa y que pueden mediar la citoprotección inducida por la prostaglandinas, de lo cual se desprende que los grupos sulfhidrilo son requeridos para la síntesis de prostanoides y para la activación de los receptores de las prostaglandinas (Szabo et al., 1981; Kontureck et al., 1987; Shorrock y Rees, 1988; Maity et al., 1998).

El efecto gastroprotector del DGS, no resultó modificado con tratamiento previo de L-NAME, un inhibidor de la óxido nítrico sintasa, enzima responsable de catalizar la reacción de L-arginina a óxido nítrico, el cual tiene efecto vasodilatador en capilares del estómago, la secreción ácida y alcalina (White y Lopez-Belmonte, 1993). El papel del óxido nítrico en la gastroprotección ha sido ampliamente aceptado (Elliot y Wallace 198; Cui et al., 2002), pero en el mecanismo de acción de DGS no se encuentra involucrado.

VIII. CONCLUSIONES

1. En el presente trabajo se demostró la actividad gastroprotectora de los extractos de *Lp*, identificándose como el principio activo al compuesto DGS.
2. En el mecanismo de acción gastroprotector de DGS las prostaglandinas participan de manera importante, los grupos sulfhidrilos con un rol secundario y el óxido nítrico no tiene participación.

IX. BIBLIOGRAFÍA

Allen, A., Flemstrom, G., Garner, A., Kivilaakso, E. (1993). Gastroduodenal mucosal protection. *Am. J. Physiol.* 73: 823-857.

Atay, S., Tarnawski, A., Dubois, A. (200). Eicosanoids and the stomach. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 61:105-124.

Arrieta, J., Benítez J., Flores, E. Castillo, C., 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.

Arrieta, J., Sánchez-Mendoza E., Castillo, C., Navarrete, A.(2006). Role of endogenous prostaglandins in gastroprotection of β -sitosterol and four derivative esters on ethanol-induced gastric mucosal lesions in rats. *Proc. West. Pharmacol. Soc* 49: 130-133

Barbosa, P., 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., Finch, H. (1990). Inhibitors of gastric acid secretion. *Nat. Prod. Rep.* 7(5), 409-445.

Bertaccini, G., Coruzzi, G. (1985). Pharmacology of the treatment of peptic ulcer disease. *Dig. Dis. Sci.* 30 (suppl. 11):435.

Blazer, M., Parsonnet, J. (1994) Parasitism by "show" bacterium *Helicobacter pylori* leads to altered gastric homeostasis and neoplasia. *J. Clin. Invest.* 94:4-8.

Borrelli, F., Izzo, A. (2000). The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. *Phytother. Res.* 14:581-591.

Brunton, L. (1996). Fármacos para el control de la acidez gástrica y el tratamiento de úlceras pépticas. Editor Goodman Guilman A. En las bases farmacológicas de la terapéutica, tomo I pp. 965-1001.

Chandranath, S., Bastaki, S., 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

De Vincentis, A., Bartosek, I., 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 256-560.

Flores, J., Espulgues, V. (1999). Farmacología de la secreción ácida gástrica y de la úlcera mucosa. Flóres, J. Armijo y A. Mediavilla. Farmacología humana 3a ed. Ed. Masson S.A. 756-784.

Gallimore, D., Jordan, S., (2004) Prescription drugs: uses and effects. Nurs. Stand. 19:14-17.

Galvin, G., Szabo, S. (1992). Experimental gastric injury: laboratory models reveal mechanism of pathogenesis and new therapeutic strategies. FASEBJ. 6:825-31

Gupta, M., Nath, R., Gupta, G., Bhargava, K. (1981). Ind. J. Res. 73:649-652.

Guth, P. (1973). Experimental production of peptic ulcer. Gastroenterol. 64:1187-88.

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., Sametz, W. (1986). Gastric mucosal protection against ulcerogenic factors in the rat mediated by capsaicin-sensitive efferent neurons. Gastroenterol. 91 (4): 975-81.

Hoogerwerf, W.A., Parischa, 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.

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, Szabo, S: (1987). Gastric mucosal protection by agents altering gastric mucosal sulfhydryls. Digestion. 37:65-71.

Lewis, D.A., Hanson, P.J. (1991). Anti-ulcers drugs of plant origin. Prog. Med. Chem. 28:201-2031.

Maity, S., Rajan, J., Kumar, D. (1998). Role of glutathione in the antiulcer effect of hot water extract of black tea (*Camellia sinensis*) Jpn. J. Pharmacol. 78:285-292.

Navarrete, A., Martínez -Uribe, L., Reyes, B. (1998). Gastroprotective activity of the stem bark of *Amphiterygium adstringens* in rats. Phytoter. Res 12:1-4.

Navarrete, A., Reyes, B., Silva, A., Sixtos, C., Islas, V., Estrada, E. (1990). Evaluación farmacológica de la actividad de *Amphiterygium adstringens* (Cuachalalate). *Rev. Mex. Cienc. Farm.* 21:28-32.

Navarrete, A., Trejo-Miranda, J., Reyes-Trejo, L. (2001). Principles of root bark *Hippocratea excelsa* (Hippocrataceae) with gastroprotective activity. *J. Ethnopharmacol.* 79:383-388.

Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-199-. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Estados Unidos Mexicanos. SAGARPA.

Peskar, B., Maricic, N. (1998). Role of prostaglandinas gastroprotection. *Dig. Dis. Sci* 43 (suppl.9): 23s-29s.

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

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

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-S116.

Shorrock, C., Rees, W. (1988). Overview of gastroduodenal mucosal protection. *Am. J. Med.* 84 (suppl. 2a). 25-34.

Shorrock, C., Prescott, J., Rees, D. (1990). The effects of indometacin on gastroduodenal morphology and mucosal pH gradient in the healthy human stomach. *Gastroenterol.* 99:334-339.

Snykers, F., Fourie, T. (1989) Eur. Patent. EP93520.EN. 100:39613

Sodeman, A., Sodeman, M. (1984) *Fisiopatología Clínica. Mecanismos de producción de los síntomas.* 6a ed. Ed Interamericana. México, D.F.

Scoll, A. (1994) *Úlceras gástricas, duodenal y por estrés.* M. Sleisenger, J Fordtran, B Scharschmidt, M Feldman y J. Cello (eds). *Enfermedades gastrointestinales fisiología, diagnóstico y tratamiento.* Tomo 1:623-624.

Szabo, S., Goldberg, I. (1990). Experimental pathogenesis: drugs and chemical lesion in the gastric mucosa. *Scand.J. Gastroenterol.* 25 (suppl. 174):1-8.

Efecto gastroprotector de DGS aislado de *Lp*: participación de grupos sulfhidrilo, prostaglandinas y óxido nítrico en su mecanismo de acción.

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., Traer, J., Frnakel, P. (1981). Sulfhydryl compounds may mediate gastric cytoprotection. *Science* 214:200-202.

Takahashi, S., Takeuchi, K., 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., Kubomi, M (1998). Stimulation of duodenal bicarbonate 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 nonsteroidal 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., Okabe, S. (2001). Recent advances in gastrointestinal pathophysiology: roles 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. *Etiopatología.* ENEP Iztacala UNAM.

Wan, B., Gottfried, S. (1985). Cytoprotective action of carbenoxolone sodium on ethanol-induced gastric lesion in rats and its inhibition by indomethacin. *J. Pharm. Pharmacol.* 37:739-741.

Zhang, J., Yan, C., Zhan, Y., Gao, W., Zhai, X. (1990). Effect of Scopolamine drugs on the gastric mucosal lesions in rats. *Yaoxue Xuebao.* 25: 90-94. *Chem. Abstr.* 112:40.