



Número de Proyecto:

Año:

(No llenar)

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA

Facultad de Ciencias Veterinarias

1. IDENTIFICACIÓN del PROYECTO

TÍTULO del PROYECTO: EVALUACIÓN DEL EFECTO GASTROPROTECTOR DE *Gnaphalium gaudichaudianum*, *Jodina rhombifolia*, *Lippia turbinata*, *Plantago lanceolata* y *Ruta chalepensis*.

1.2. TIPO de INVESTIGACIÓN: Aplicada

1.3. CAMPO de APLICACIÓN PRINCIPAL: (Ver Códigos en Planilla Adjunta)

.....

1.4. CAMPOS de APLICACIÓN POSIBLES: (Ver Códigos en Planilla Adjunta)

.....

2. INSTITUCIONES y PERSONAL que INTERVIENEN en el PROYECTO

2.1. AREAS, CENTROS y/o INSTITUTOS: Centro de Investigación y Desarrollo de Fármacos (CIDEF).

2.2. OTRAS INSTITUCIONES:

2.3. EQUIPO de TRABAJO:

2.3.1 INTEGRANTES

Apellido y Nombre	Título Académico	Categ. Invest.	Responsabilidad (1)	Cátedra o Institución	Cargo y Dedicación	Tiempo dedicac Hs./Sem
Toso, Ricardo Enrique	Dr	II	D	Farmacología	Prof. Adj Ex	8
Toribio, Mirta Susana	MV	III	I	Farmacología	Prof. Adj Ex	8
Boeris, Mónica Alejandra	MV	IV	I	Fisiología Animal	JTP Ex	8
Mengelle Pablo	MV	-	I	Farmacología	Ayud Seg	5

(1) D: Director, CD: Co-Director, A: Asesor, I: Investigador, AI: Asistente de Investigación.

3. DURACIÓN ESTIMADA del PROYECTO:

3.1. FECHA de INICIO: 01 / 01 / 08 **FINALIZACIÓN:** 31 / 12 / 10

4. RESUMEN del PROYECTO:

Estudios previos llevados a cabo para evaluar la presencia de actividad gastroprotectora en plantas de la Provincia de La Pampa, permitieron seleccionar como especies promisorias a *Gnaphalium gaudichaudianum*, *Jodina rhombifolia*, *Lippia turbinata*, *Plantago lanceolata* y *Ruta chalepensis*. El grado de actividad farmacológica fue determinado utilizando un modelo de inducción de úlceras por estrés en ratones. Este modelo es sensible para detectar la presencia de actividad gastroprotectora, sin embargo, considerando que las úlceras poseen una etiología multifactorial, resulta insuficiente para determinar los alcances terapéuticos de cada planta. Con el fin de obtener mayor información sobre las acciones farmacológicas involucradas en la respuesta gastroprotectora, se propone en este trabajo comprobar si estas especies vegetales también previenen las úlceras inducidas por agentes químicos y farmacológicos. Además se desarrollarán estudios toxicológicos y otros ensayos complementarios como determinación del pH intragástrico, pH de los extractos utilizados, actividad antioxidante y producción de mucus. Los resultados obtenidos en estos estudios permitirán inferir los alcances terapéuticos de estas plantas y su potencial uso como fitofármacos en medicina veterinaria. Para llevar a cabo los ensayos se utilizarán como ratones como animales de experimentación, con excepción de la determinación de la actividad antioxidante que se realizará *in vitro*.

5. INTRODUCCIÓN y ANTECEDENTES

5.1. INTRODUCCIÓN, MANEJO DE FUENTES BIBLIOGRÁFICAS y DESCRIPCIÓN de la SITUACIÓN ACTUAL del PROBLEMA

En la búsqueda de plantas con propiedades medicinales los investigadores prestan especial atención a la utilización de la información etnobotánica. Este método es considerado el más eficaz ya que se ha comprobado una notable precisión en los usos populares. Sin embargo, parte de esta información se ha perdido y muchas otras especies vegetales, que podrían contener grupos químicos de interés farmacológico, no han sido utilizadas. Por esta razón, los métodos de prospección al azar se emplean en la búsqueda de compuestos activos por parte de la industria farmacéutica (Cox y Balick, 1994; Khafagi y Dewedar, 2000). Estos estudios pueden llevarse a cabo ensayando sistemáticamente distintas plantas para determinar la presencia de actividad farmacológica utilizando modelos experimentales *in vivo* o *in vitro*.

Utilizando esta metodología en el Centro de Investigación y Desarrollo de Fármacos (CIDEF) de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLPam se desarrolla un programa de investigación que tiene como objetivo ampliar el conocimiento sobre el potencial farmacológico de las plantas que habitan la Provincia de La Pampa. Para llevar a cabo estos estudios el CIDEF cuenta con un Banco de Extractos Vegetales (BEV) donde se conservan almacenadas muestras de extractos hidroalcohólicos de plantas nativas y naturalizadas de la Provincia de La Pampa que son ensayadas sistemáticamente en modelos *in vivo* e *in vitro* (Toso, et al., 2007). Una de las líneas de trabajo está orientada a identificar especies vegetales con propiedades gastroprotectoras. Resultados obtenidos en estos ensayos permitieron seleccionar como especies promisorias a *Gnaphalium gaudichaudianum* (Toso y Boeris, 2005^a), *Jodina rhombifolia* (Toso y Boeris, 2005^b), *Lippia turbinata*, *Plantago lanceolata* y *Ruta chalepensis* (Toso et al., 2006). Estos estudios fueron llevados a cabo empleando un modelo de inducción de úlceras por estrés provocado por hipotermia e inmovilización en ratones (Yesilada et al.,

1999). Este modelo provoca úlceras como consecuencia de una serie de procesos fisiopatológicos que comienzan con la disminución del flujo sanguíneo de la mucosa gástrica (Jacobson, 1992). La escasa irrigación afecta a los factores citoprotectores mediados por las prostaglandinas (Robert, 1979). La reducción en la secreción de mucus y bicarbonato provoca el debilitamiento progresivo de la barrera mucosa gástrica (Murakami et al., 1985; Tackeuchi et al., 1999). Estos acontecimientos son acompañados por un aumento de la motilidad gástrica que favorece el desprendimiento de mucus por un efecto erosivo mecánico permitiendo que el ácido clorhídrico dañe la pared del estómago (Lin y Tan, 1994).

Además del estrés, las úlceras pueden ser el resultado de alteraciones en la secreción del ácido clorhídrico, la disminución de los factores citoprotectores como efecto secundario de los AINEs y la presencia de *Helicobacter spp.* como causa única o asociado a otra etiología (Hernández y Gollón, 2002). También se presentan en animales que ingieren alimentos inadecuados, en exceso, demasiado calientes o congelados. Pero independientemente del factor desencadenante, para que se lesione la mucosa gástrica el agente injuriante debe romper el equilibrio entre los mecanismos defensivos, que están representados finalmente por la barrera mucosa, y llegar a la pared del estómago (Zolezzi, 1998). Esta característica fundamentó la elección del método de inducción de úlceras por estrés en ratones para realizar las búsquedas al azar. Todas aquellas plantas cuyo mecanismo de acción se relacione con el aumento de la síntesis de prostaglandinas y la secreción de mucus y bicarbonato, la disminución de la secreción de ácido y de la motilidad gástrica, aumenten el pH intragástrico o simplemente tengan un efecto protector directo sobre la mucosa gástrica, expresarán un cierto grado de actividad gastroprotectora al ser ensayadas con el modelo de estrés.

Como puede observarse, el modelo de estrés resulta sensible para detectar plantas con actividad gastroprotectora, pero la información obtenida no es suficiente para inferir sus alcances terapéuticos. Debe considerarse que de acuerdo al factor desencadenante de la lesión gástrica, algunos tratamientos resultarán más efectivos que otros. Por ejemplo, en úlceras provocadas por estrés son efectivas las drogas con acción anticolinérgica y citoprotectoras combinadas o no con ansiolíticos. Pero éstas son de moderado efecto cuando se presentan alteraciones en la secreción del ácido clorhídrico o cuando se inhibe la síntesis de prostaglandinas por efecto de los AINEs. En estos casos se requiere de la administración de inhibidores de la bomba de protones o antihistamínicos H₂. En caso de detectarse la presencia de *Helicobacter spp.* se deberá instaurar un tratamiento combinado de antibióticos con alguna de las drogas mencionadas (Brunton, 1996; Filinger, 2000). Los inhibidores de la bomba de protones y los anti H₂ también son efectivos en el tratamiento de las úlceras por estrés al elevar el pH gástrico, contribuyendo de esta manera a mantener la integridad de la debilitada barrera gástrica.

Los efectos secundarios de estos agentes antiulcerosos limitan su empleo en tratamientos prolongados. Por esta razón resulta de interés investigar la acción de plantas con esta actividad ya que se ha demostrado que poseen compuestos bioactivos que podrían calificarlas para su uso clínico. Estudios fitoquímicos permitieron identificar distintos principios activos responsables de esta actividad y elucidar sus mecanismos de acción. Entre otros pueden mencionarse los flavonoides (Di Carlo et al., 1993; Hammad y Abdala, 1997; Martín et al., 1998), lactosas sesquiterpénicas (Giordano et al., 1997; Herz y Sosa, 1998), taninos y alcaloides (Cola Miranda et al., 2006) y aceites esenciales (Hiruma Lima et al., 2002). El flavonoide hipoletin-8-glucósido, presente en el género *Sideritis* (Alcaraz y Hoult, 1985) y los glucósidos fenólicos de la *Filipendula ulmaria* poseen actividad antiinflamatoria y citoprotectora gástrica. Los curcuminoides de la *Curcuma longa* han demostrado selectividad enzimática sobre la vía de la COX 2 protegiendo a la mucosa gástrica sin afectar la síntesis de prostaglandinas mediada por COX 1.

Una característica común en las plantas es que en una sola especie, uno o más de estos compuestos bioactivos, pueden estar presentes en cantidad suficiente para expresar sus efectos. Esta particularidad hace posible que una misma planta exhiba más de una propiedad farmacológica o que una acción sea el resultado de varias principios actuando en forma conjunta (Evans, 1995).

De acuerdo con lo expuesto, es probable que los extractos que mostraron ser efectivos utilizando el modelo de estrés, exhiban diferentes grados de prevención según los agentes injuriantes que provoquen las úlceras. El grado de efectividad que expresen frente a cada agente injuriante resulta relevante al momento de inferir los posibles usos clínicos de cada planta. Para obtener esta información en este trabajo se propone comprobar si *Chenopodium multifidum*, *Gnaphalium gaudidraudianum*, *Iodina rhombifolia*, *Lippia turbinata*, *Marrubium vulgare*, *Plantago lanceolata*, *Ruta chalepensis* y *Tríbulus terrestris* previenen las úlceras inducidas por agentes químicos y farmacológicos. El grado de prevención logrado en cada modelo experimental permitirá sugerir las posibles indicaciones clínicas de estas especies vegetales.

El empleo de agentes químicos como el etanol lesiona la mucosa por una acción directa y por mecanismos oxidativos. Estas lesiones pueden prevenirse por la PGE₂ que actúa modificando la secreción ácida y estimulando la secreción de mucus. También se ha demostrado que pueden ser prevenidas por compuestos con propiedades antioxidantes como el flavonoide quercetina, presente en las plantas (Sandoval et al., 2006). Un estudio complementario para determinar las propiedades antioxidantes del extracto podría aportar evidencias del mecanismo de acción implicado (Güntner et al., 1999).

Es bien conocida la diferente especificidad de los AINEs para inhibir la enzima COX y concretamente, la mayor o menor selectividad para actuar sobre cada una de las dos isoformas identificadas de esta enzima, COX-1 y COX-2. Así piroxicam, sulindac o indometacina son inhibidores más selectivos de COX-1, molécula involucrada en la producción de PGs con funciones tales como protección gástrica, homeostasis vascular o función renal. Las lesiones gástricas inducidas por estos fármacos pueden ser prevenidas por drogas que reducen la secreción ácida tales como el omeprazol y misoprostol (Cavallini et al., 2006). Se ha comprobado que compuestos vegetales como el canferol (Goel et al., 1996) y el hipoletín-8-glucósido producen efectos citoprotectores similares a las prostaglandinas (Alcaraz y Hault, 1985). La administración previa de indometacina en ratones permitiría determinar si los efectos antiulcerosos producidos por los extractos a ensayar están mediados por las prostaglandinas.

Otros compuestos vegetales con actividad citoprotectora como lactonas sesquiterpénicas actúan aumentando la secreción de mucus y bicarbonato y reduciendo la motilidad gástrica previniendo lesiones inducidas por estrés, indometacina y por aumento de la acidez por administración de agentes químicos tales como ácido acético y clorhídrico (Gürbüz y Yesilada, 2007). Este mecanismo de acción puede ponerse en evidencia midiendo la cantidad de mucus producido o por medio de estudios histológicos de la pared del estómago coloreados con ácido periódico-Schiff (PAS).

Como fue mencionado, el estrés produce un trastorno en la motilidad gástrica que puede ser antagonizado por agentes antiespasmódicos - anticolinérgicos como atropina e hioscina al reducir la acidez y los espasmos. Algunos compuestos presentes en las plantas que poseen un grupo α -metileno- γ -butirolactona poseen estas propiedades (Giordano et al., 1997). El efecto antiespasmódico puede determinarse administrando carbón 30 minutos después de los extractos y midiendo el progreso del mismo en el tracto intestinal (Arbos et al., 1993).

Los agentes que actúan protegiendo la mucosa gástrica como el sucralfato protegen de los agentes físicos y químicos que lesionan en forma directa a la mucosa

protegiendo del ácido y de las enzimas. Mucílagos y pectinas vegetales tienen esa acción protectora (Gorriti Gutiérrez et al., 1998).

Este breve resumen demuestra que el análisis de la información recogida al ensayar los extractos en distintos modelos experimentales y comparar sus efectos con drogas de referencia y análisis complementarios permitirá determinar el alcance terapéutico de cada muestra vegetal. La información obtenida podrá emplearse para sugerir en el futuro ensayos clínicos que determinen el potencial farmacéutico de estas plantas.

5.2. RESULTADOS ALCANZADOS POR el(los) INTEGRANTE(S) del PROYECTO DENTRO del ÁREA de CONOCIMIENTO del MISMO: (Publicados, enviados o aceptados para publicar, o inéditos)

Capítulos de libros

- CAPITULO: RICARDO ENRIQUE TOSO, MARIO IGNACIO SKLIAR / LA FARMACOGNOSIA EN EL ESTUDIO SISTEMÁTICO DE LAS PLANTAS MEDICINALES / PARA EL LIBRO: HILTON MACHADO MAGALHAES; FARMACOLOGÍA VETERINARIA, TEMAS ESCOLHIDOS II / Ed unica; GUAIBA, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL; EDITADO POR LIVRARIA E EDITORA AGROPECUARIA; (1999), Pag 107 - 136. I.S.B.N. 85-85347-49-X.
- CAPITULO: MARIO IGNACIO SKLIAR, RICARDO ENRIQUE TOSO / DESCUBRIMIENTO Y ENSAYO DE NUEVAS DROGAS EN MEDICINA VETERINARIA / PARA EL LIBRO: HILTON MACHADO MAGALHAES; FARMACOLOGÍA VETERINARIA, TEMAS ESCOLHIDOS III / Ed unica; GUAIBA, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL; EDITADO POR LIVRARIA E EDITORA AGROPECUARIA; (2002), Pag 75 - 87. I.S.B.N. 85-85347-96-1.
- CAPITULO: RICARDO ENRIQUE TOSO, MÓNICA BOERIS, MARIO IGNACIO SKLIAR, / PRODUCTOS NATURALES: UN CAMPO DE ACCIÓN PROMISORIO PARA LA MEDICINA VETERINARIA / PARA EL LIBRO: HILTON MACHADO MAGALHAES; FARMACOLOGÍA VETERINARIA, TEMAS ESCOLHIDOS III / Ed unica; GUAIBA, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL; EDITADO POR LIVRARIA E EDITORA AGROPECUARIA; (2002), Pag 109 -120. I.S.B.N. 85-85347-96-1
- CAPITULO: RICARDO ENRIQUE TOSO, MIRTA TORIBIO / RECURSOS TERAPÉUTICOS PARA EL TRATAMIENTO DE LA AFECCIONES HEPÁTICAS / PARA EL LIBRO: HILTON MACHADO MAGALHAES; FARMACOLOGÍA VETERINARIA, TEMAS ESCOLHIDOS III / Ed unica; GUAIBA, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL; EDITADO POR LIVRARIA E EDITORA AGROPECUARIA; (2002), Pag 121 - 134. I.S.B.N. 85-85347-96-1

Trabajos publicados

- TOSO, R. E.; SKLIAR, M.I. / "EFECTO CITOPROTECTOR DE EXTRACTOS DE *CENTAUREA SOLSTITIALIS* SOBRE LESIONES GÁSTRICAS INDUCIDAS POR ESTRÉS EN RATAS" / CIENCIA VETERINARIA / ISSN 1515-1883 / 1: 9-14. (1999).
- AUDISIO, S. N.; AUDISIO, S. A.; MARIA, A. E.; TOSO, R. E.; TORIBIO, M.; MERLASSINO, J.; FRANCES, O.; VERNA, E. / "TRATAMIENTO DE HEPATOPATIAS EQUINAS CON SILIMARINA" / CIENCIA VETERINARIA / ISSN 1515-1883 / 1: 85- 91. (1999).
- TOSO, R. E.; SKLIAR, M.I. / HISTOFISIOPATOLOGIA Y TRATAMIENTO DE LA ULCERA GÁSTRICA. USOS DE DROGAS VEGETALES. / ANUARIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS / ISSN 1514-9242 /2: 7 - 21. (2000).
- TOSO, R. E.; SKLIAR, M.I. / EFECTO DE LA INDOMETACINA SOBRE LA CITOPROTECCIÓN DE EXTRACTOS DE *CENTAUREA SOLSTITIALIS* CONTRA ULCERAS GÁSTRICAS INDUCIDAS POR ESTRÉS EN RATONES / CIENCIA VETERINARIA / ISSN 1515-1883 /2: 16 - 20 (2000).
- VIGLIERCHIO, M.; TORIBIO, M.; ALONSO, G.; BRUNI, M.; FERNANDEZ, M.; TOSO, R. / RELEVAMIENTO FITOQUÍMICO DE *CAESALPINIA GILLIESII* (LEGUMINOSAE) Y DE OTRAS ESPECIES DE *CAESALPINIAS* / ANUARIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS / ISSN 1514-9242 /2: 35 - 47. (2000).

- TOSO, R. E.; SKLIAR, M. I. / EFECTO DE EXTRACTOS DE *CENTAUREA SOLSTITIALIS* SOBRE EL TRÁNSITO GASTROINTESTINAL EN RATONES / *FITOCIENCIA* / 2: 10 - 12, (2000) .
- BOERIS, M. A.; TOSO, R. E.; OCHOA, G. J.; MANSO, D. A.; CUCCULO, M. E.; SKLIAR, M. I. / ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES ANTIINFLAMATORIAS DE *MARRUBIUM VULGARE* / *CIENCIA VETERINARIA* / ISSN 1515-1883 / 4: 1 - 6 (2002).
- TOSO, R. E.; SKLIAR, M. I. / AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS CON ACTIVIDAD GASTROPROTECTORA PRESENTES EN *CENTAUREA SOLSTITIALIS* / *CIENCIA VETERINARIA* / ISSN 1515-1883 / 4: 17 - 27 (2002).
- TOSO, R. E.; SKLIAR, M. I.; VERNA, E. / MODELO EXPERIMENTAL PARA EVALUAR EL TRÁNSITO GASTROINTESTINAL EN RATONES / *CIENCIA VETERINARIA* / ISSN 1515-1883 / 4: 44 - 48 (2002).
- TOSO, R. E.; SKLIAR, M. I. / ESTUDIO DE LA ACCION CITOPROTECTORA GÁSTRICA DE EXTRACTOS DE *CENTAUREA SOLSTITIALIS* / *ACTA FARMACÉUTICA BONAERENSE* / ISSN 0326-2383 / 22, 1: 27-32 (2003).
- BOERIS, M. A.; TOSO, R. E.; SKLIAR, M. I. / ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE *SALPICHROA ORIGANIFOLIA* / *ACTA FARMACÉUTICA BONAERENSE* / ISSN 0326-2383 / 23 N° 2 (2004).
- TOSO, R. E.; TORIBIO, M. S.; MENGELLE, P.; BOERIS, P. / PLANTAS DE LA PROVINCIA DE LA PAMPA, ARGENTINA, CON ACTIVIDAD GASTROPROTECTORA Y ANTIESPASMÓDICA / *InVet* / ISSN 1514-6634 / 9: (2007).
- STEIBEL, P. E.; TROIANI, H. O.; ORIANI, D. S.; ARDOINO, S. M.; TORIBIO, M. S.; BOERIS, M. A.; TOSO, R. E. / BANCO DE EXTRACTOS VEGETALES DE PLANTAS NATIVAS Y NATURALIZADAS DE LA PROVINCIA DE LA PAMPA / *AVANCES DE LA FARMACOBOTÁNICA EN LATINOAMERICA* (2004 – 2007) / 1era. EDICIÓN. / ISBN 978-987-05-2933-0 / Pag. 61 (2007).
- TORIBIO, M. S.; ORIANI, D. S.; TOSO, R. E.; TORTONE, C. A.; FERNANDEZ, J. G. / SUCEPTIBILIDAD DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* A EXTRACTOS VEGETALES OBTENIDOS DE PLANTAS NATIVAS Y NATURALIZADAS DE LA PROVINCIA DE LA PAMPA, ARGENTINA / *AVANCES DE LA FARMACOBOTÁNICA EN LATINOAMERICA* (2004 – 2007) / 1era. EDICIÓN. / ISBN 978-987-05-2933-0 / Pag. 81 (2007).

5.3. TRABAJOS de INVESTIGACIÓN de los INTEGRANTES del EQUIPO, EN ESTA U OTRA INSTITUCIÓN, RELACIONADOS al PROYECTO:

- "ELABORACIÓN DE FITOFÁRMACOS INYECTABLES A PARTIR DE TINTURAS VEGETALES" / FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, UNLPam. Res. 092.99 / FECHA DE ALTA: 1/07/99 / FECHA DE FINALIZACIÓN: 31/12/2000 / EVALUACIÓN: INTERNA Y EXTERNA.
- "EVALUACIÓN DE LA ACCIÓN DE *MEDICAGO SATIVA* SOBRE LA MOTILIDAD GASTROINTESTINAL Y EL TIEMPO DE VACIADO GÁSTRICO" / FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, UNLPam. Res. 028.01 / FECHA DE ALTA: 1/01/01 / FECHA DE FINALIZACIÓN: 31/12/02 / EVALUACIÓN: INTERNA Y EXTERNA.
- "EVALUACIÓN DEL EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DE *VERBESINA ENCELIOIDES*" / FACULTAD DE CIENCIA VETERINARIAS, UNLPam / DIRECTOR: MIRTA SUSANA TORIBIO / FECHA DE ALTA: 1 DE ENERO DE 2001 / FECHA DE FINALIZACIÓN: 31 DE DICIEMBRE DE 2001 / EVALUACIÓN: INTERNA Y EXTERNA.
- "EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE *MARRUBIUM VULGARE*" / FACULTAD DE CIENCIA VETERINARIAS, UNLPam / DIRECTOR: MÓNICA BOERIS / FECHA DE ALTA: 1 DE ENERO DE 2001 / FECHA DE FINALIZACIÓN: 31 DE DICIEMBRE DE 2003 / EVALUACIÓN: INTERNA Y EXTERNA.
- "RELEVAMIENTO FITOQUÍMICO DE 5 ESPECIES VEGETALES QUE SE DESARROLLAN EN LA CIUDAD DE GENERAL PICO Y SUS ALREDEDORES" / FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, UNLPam / DIRECTOR: VIGLIERCHIO, M. del C. / FECHA DE ALTA: 1/07/99 / FECHA DE FINALIZACIÓN: 31/12/2000 / EVALUACION: INTERNA Y EXTERNA.

- "ESTUDIOS FITOQUÍMICOS Y FARMACOLÓGICOS DE EXTRACTOS DE FLORES DE CENTAUREA SOLSTITIALIS" / UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR / DIRECTOR: SKLIAR, M. I. / FECHA DE ALTA: 1/01/01 / FECHA DE FINALIZACIÓN: 31/12/04 / EVALUACIÓN: EXTERNA.
- "ESTUDIOS DE LOS EFECTOS FISIOPATOLÓGICOS PRODUCIDOS POR EXTRACTOS DE SALPICHROA ORIGANIFOLIA EN LA RESPUESTA INFLAMATORIA" / FACULTAD DE CIENCIA VETERINARIAS, UNLPam / DIRECTOR: MARIO IGNACIO SKLIAR / FECHA DE ALTA: 1 DE ENERO DE 2002 / FECHA DE FINALIZACIÓN: 31 DE DICIEMBRE DE 2004 / EVALUACIÓN: INTERNA Y EXTERNA
- "PROYECTO DE TRANSFORMACIÓN DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO DE FÁRMACOS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, UNLPAM, COMO UNA UNIDAD DE VINCULACIÓN ENTRE LA UNIVERSIDAD Y EL SECTOR SOCIAL Y PRODUCTIVO CON CAPACIDAD PARA EVACUAR CONSULTAS Y ASESORAR SOBRE EL CONSUMO Y PRODUCCIÓN DE PLANTAS MEDICINALES EN LA PROVINCIA DE LA PAMPA. GRUPO DE INVESTIGACIÓN DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO DE FÁRMACOS (CIDEF)". PRESENTADO EL 15/09/03. PERÍODO DE EJECUCIÓN 1/01/04 HASTA 31/12/04. RESOLUCIÓN SPU N° 98/03
- "ESTUDIO DE PLANTAS NATIVAS O NATURALIZADAS DE LA PROVINCIA DE LA PAMPA CON PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS SOBRE BRUCELLA CANIS Y ANTIPARASITARIAS SOBRE CEPAS DE HAEMOCHUS PLACEI RESISTENTES A IVERMECTINA". ACTA DE LA COMISIÓN Ad Hoc. Orden de Mérito de Proyectos API. 9. 2003.
- "ASPECTOS BOTÁNICOS, ECOLÓGICOS, ANTROPOLÓGICOS Y COGNITIVOS DE PLANTAS MEDICINALES NATIVAS DE LA PROVINCIA DE LA PAMPA. CONTRIBUCIÓN A LA ECOLOGÍA BIOCULTURAL Y A LA AGROINDUSTRIA DE LA REGIÓN" / GRUPO DE INVESTIGACIÓN DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO DE FÁRMACOS (CIDEF). RESOLUCIÓN: 001/04 CS
- "DETERMINACIÓN DEL EFECTO GASTROPROTECTOR DE PLANTAS NATIVAS DE LA PROVINCIA DE LA PAMPA, ARGENTINA". FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS, UNLPam. Res. 133/05 CD / FECHA DE ALTA: 1/01/05 / FECHA DE FINALIZACIÓN: 31/12/06 / EVALUACIÓN: EXTERNA. PROYECTO PRORROGADO HASTA EL 31/12/07 Res CD 048/2007.

6. DESCRIPCIÓN del PROYECTO

6.1. PROBLEMA CIENTÍFICO, OBJETIVOS, HIPÓTESIS y RESULTADOS ESPERADOS del PROYECTO

Problema Científico

La etiología multifactorial de las úlceras gástricas y su tendencia a las recidivas frecuentemente determinan el fracaso de los tratamientos instaurados, tanto para la prevención como para el tratamiento de esta enfermedad. Estas lesiones también se caracterizan por pasar desapercibidas hasta la presencia de síntomas contundentes como sangre en heces o síndromes agudos en las perforaciones.

Los equinos de deporte presentan con frecuencia úlceras provocadas por el esfuerzo en competencias y entrenamientos que afectan sensiblemente el rendimiento de los animales, haciendo necesario el tratamiento preventivo y/o curativo. Sin embargo, los efectos secundarios limitan la administración continua de inhibidores de la bomba de protones o anti H₂. Por esta razón, resulta de interés buscar nuevos fármacos. Las plantas, han demostrado efectividad en modelos animales que evidencian una potencial utilidad.

Teniendo como objetivo realizar aportes al descubrimiento de nuevos compuestos con propiedades gastroprotectoras, el grupo de investigadores que participará en el presente proyecto, llevó a cabo ensayos con extractos vegetales de plantas de la Provincia de la Pampa utilizando un modelo de inducción de úlceras por estrés.

Considerando la etiología multifactorial de las úlceras gástricas, la información obtenida hasta el momento sobre estas plantas sólo sugiere una importante actividad preventiva frente a situaciones de estrés. Pero esta información resulta insuficiente para hacer recomendaciones sobre sus alcances terapéuticos cuando actúan otros agentes etiológicos. De modo que deben ensayarse utilizando otros modelos

experimentales que induzcan lesiones por medio de agentes químicos y farmacológicos.

Objetivos:

- Ensayar extractos hidroalcohólicos de *Gnaphalium gaudichaudianum*, *Jodina rhombifolia*, *Lippia turbinata*, *Plantago lanceolata* y *Ruta chalepensis*. utilizando métodos químicos y farmacológicos para determinar el grado de actividad gastroprotectora en cada uno de ellos.
- Determinar la Dosis Tóxica₅₀ de los extractos.
- Emplear técnicas complementarias que aporten datos sobre los mecanismos de acción que intervienen en la respuesta gastroprotectora. Por ejemplo, determinación de la actividad antioxidante de los extractos, determinación del pH gástrico, determinación del pH del extracto, evaluación del efecto sobre la motilidad gástrica, determinación del efecto sobre la secreción de mucus.
- Utilizar la información obtenida en este trabajo para sugerir las indicaciones clínicas de cada planta.

Hipótesis:

- La gran cantidad de metabolitos secundarios presentes en las plantas suelen expresar una determinada acción farmacológica a través de la acción aditiva de varios compuestos. Teniendo en cuenta lo expuesto se espera que los extractos exhiban actividad gastroprotectora en más de un modelo experimental, aunque con distintos grados de efectividad.
- De acuerdo con el grado de efectividad que expresen los extractos vegetales en cada modelo experimental se podrán inferir las indicaciones clínicas.

Resultados esperados:

- Se espera hallar plantas que muestren actividad en más de un modelo experimental ya que serán de mayor interés terapéutico al prevenir un espectro más ampliado de etiologías.
- Los resultados obtenidos permitirán diseñar ensayos clínicos en animales domésticos que determinen el potencial uso en medicina veterinaria de fitofármacos elaborados con estos extractos vegetales.

6.2. METODOLOGÍA, MODELOS y TÉCNICAS.

Obtención de los extractos

Los extractos hidroalcohólicos serán provistos de la colección del Banco de Extractos Vegetales del CIDEF.

Método de obtención: Se maceraron 100 g de partes aéreas desecadas y trituradas en 1 litro de solución etanol - agua (1:1, v/v) cambiando el solvente de extracción cada 48 h (3x). Los extractos se juntaron y llevaron a sequedad en rotavapor

fraccionando en 10 frasco ampolla conteniendo cada uno el extracto proveniente de 10 g de planta desecada. Los frasco-ampolla son conservados a – 20°C hasta el momento de realizar los ensayos.

Animales de experimentación

Se utilizarán ratones de 25 – 28 g de peso provistos por el Bioterio de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLPam. Los animales serán sometidos a ayuno completo 12 h antes de los ensayos utilizando jaulas especiales para evitar la coprofagia.

Preparación de las soluciones de extractos y fármacos de referencia. Dosis utilizadas en los distintos ensayos

El extracto hidroalcohólico proveniente de 1 g de partes aéreas desecadas de la planta será resuspendido hasta un volumen de 0,5 ml en un vehículo compuesto por una mezcla de carboximetilcelulosa al 0,1 % y Tween 80 al 0,05 % (1:1, v/v) (Ex) y se administrará vía oral con una sonda gástrica.

Los fármacos de referencia ranitidina, omeprazol y sucralfato serán administrados vía oral en dosis de 50 mg/kg, 20 mg/Kg y 400 mg/kg respectivamente. Todas las soluciones serán preparadas inmediatamente antes de ser administradas.

En todos los ensayos se utilizaran grupos controles a los que se les administrará vía oral el Ex en un volumen de 0,5 ml

Inducción de úlceras gástricas por método farmacológico (indometacina)

Se utilizará el método descrito por Lee et al. (1971). Los extractos, ranitidina y omeprazol como fármacos de referencia y el Ex se administrarán intragástricamente a ratones 60 min antes de la administración oral de indometacina en dosis de 20 mg/kg en NaHCO₃ al 4 % a una concentración de 8 mg/ml. Los animales se sacrificarán 6 h después de la administración de indometacina por sobredosis de éter y los estómagos se insuflarán con agua destilada y fijarán en formol al 10 % durante 12 h. Se abrirán por la curvatura mayor y se tomarán fotografías de la superficie junto a una escala milimetrada para utilizar de referencia. El área ulcerada (AU) se medirá por medio de un analizador de imágenes y expresará en mm². El porcentaje de inhibición producido por los extractos en los distintos grupos tratados en relación al Grupo control se calculará utilizando la fórmula $[(AU_{\text{Grupo control}} - AU_{\text{Grupo tratado}} / AU_{\text{Grupo control}}) \times 100]$. El efecto de las drogas de referencia y de los extractos será comparado con respecto al grupo testigo utilizando el test t de Student. El Grupo Control, Grupo Ranitidina, Grupo Omeprazol y los Grupos tratados con cada uno de los 5 Extractos estará conformado por 5 ratones.

Inducción de úlceras gástricas por método químico (etanol)

Se utilizará el método de Robert et al. (1979). Los extractos, ranitidina, omeprazol, sucralfato, y Ex se administrarán oralmente 60 minutos antes de administrar 1 ml de etanol al 75 % por la misma vía. Después de otros 60 min los ratones se sacrifican y extraen los estómagos para evaluar los resultados utilizando los procedimientos descriptos para la indometacina.

Para determinar si la gastroprotección del extracto se produce por vía sistémica o por una acción directa sobre la mucosa, se evaluará también su actividad administrándolo intraperitonealmente, a ratones en dosis de 1 g de extracto seco por kg de peso, 60 min antes de producir daño mucosal por etanol. Esta vía de

administración evita el contacto del extracto con la mucosa gástrica. El efecto de las drogas de referencia y de los extractos será comparado con respecto al grupo testigo utilizando el test t de Student. El Grupo Control, Grupo Ranitidina, Grupo Omeprazol, Grupo Sucralfato y los Grupos tratados con cada uno de los 5 Extractos estará conformado por 5 ratones.

Estudios complementarios

En todos los estudios que se emplearán animales los grupos estarán conformados por cinco ratones *mus musculus* de 25 – 28 g.

Determinación de la actividad antioxidante de los extractos vegetales

Materiales y Drogas: Hidroxitolueno butilado (BHT), peróxido de hidrógeno y β -caroteno. Las mediciones de absorbancia se realizarán con un espectrofotómetro.

Método: Se utilizará el método descrito por Güntner et al. (1999). Cada ensayo se realizará mezclando 1 ml de una solución de 7 mg/l de β -caroteno en acetato de etilo con 200 μ l de acetato de etilo como control o 200 μ l de cada solución a ensayar: BHT, o extracto hidroalcohólico de cada planta, a una concentración de 40 mg/l en acetato de etilo. A cada solución se le agregarán 3 gotas de una solución de 1 volumen de peróxido de hidrógeno en dioxano. Se medirá la absorbancia inicial (A_0) a 480 nm y a continuación se registrará cada 5 minutos (A_t). El porcentaje de oxidación del β -caroteno se informará como $(A_0 - A_t)/A_0 \times 100$. Se realizarán cuatro repeticiones de cada ensayo. Los resultados serán graficados y las diferencias serán evaluadas por anova.

Determinación del pH gástrico de los ratones

Método: La determinación se realizará de acuerdo con el método descrito por Murakami et al. (1985). Un grupo será administrado con el Ex y otros dos con ranitidina y omeprazol respectivamente como drogas de referencia. El resto de los grupos será administrado con cada uno de los extractos de las plantas. Cada grupo estará conformado por 5 ratones. Una hora después de administrado los extractos, los animales serán sacrificados por sobredosis de éter etílico. Se extraerán los estómagos, se abrirán por la curvatura mayor y se colocará una tira de papel indicador de pH sobre la porción glandular de la mucosa gástrica. El aumento del pH gástrico de los animales tratados será comparado respecto a animales administrados solamente con los excipientes y evaluado por test t de Student.

Determinación del pH de los extractos

Método: Los extractos serán preparados con los excipientes de igual forma que la explicada para la administración. El pH será medido utilizando un peachímetro digital. Los valores serán comparados utilizando el test "t" de Student con los obtenidos en forma intragástrica con los mismos extractos.

Evaluación del efecto de los extractos sobre la producción de mucus

Método histológico: Los animales serán divididos en grupos de cinco animales cada uno. Una hora después de administradas las drogas de referencia, ranitidina y omeprazol y los extractos serán sacrificados por sobredosis de éter y los estómagos extraídos se fijarán en solución de formol al 10 %. Después de 24 h serán procesados y coloreados con ácido periódico-Schiff (PAS). La evaluación de los resultados se realizará por observación comparativa de cortes histológicos de las mismas regiones anatómicas de los estómagos pertenecientes a animales del grupo control tratado con los excipientes.

Determinación del efecto sobre la motilidad gástrica

Método radiológico: Se utilizará el método descrito por Toso et al. (2002). Los animales se dividirán en grupos de 5 ratones cada uno y serán tratados con los extractos de igual forma a la explicada para la inducción de úlceras por indometacina. Transcurridos 30 minutos de la administración del extracto los animales serán administrados *per os* con 0,5 ml de una solución de 13 g de sulfato de bario en 25 ml de agua destilada. Inmediatamente y cada 10 minutos se tomará una radiografía. Un grupo de animales será tratado con hiosciamina y otro con atropina como drogas de referencia. Los resultados serán analizados comparando el tiempo de vaciado gástrico y progreso del contenido intestinal respecto al grupo control. La diferencia entre los tiempos de vaciado gástrico y el tiempo de evacuación total de la sustancia radiopaca de los grupos tratados con las drogas de referencia y los extractos serán evaluados utilizando el test t de Student.

Estudios de toxicidad aguda y subaguda

Método para determinación de DL50 con dosis tóxica aguda: se utilizarán grupos de 10 ratones, 2 grupos de ratones machos y dos grupos de hembras. Se administrarán con una dosis única 10 veces superior a la dosis terapéutica. En caso que no se detecte toxicidad se elevará a 20 veces.

Método para determinación de DL50 con dosis tóxica subaguda: Utilizando el mismo esquema explicado para toxicidad aguda, se administrará diariamente una dosis cinco veces superior a la terapéutica durante 15 días consecutivos.

Los animales sobrevivientes serán sacrificados por sobredosis de éter y se enviarán muestras de cerebro, riñón, hígado, bazo y pulmón al laboratorio de histopatología.

6.3. CONTRIBUCIÓN al CONOCIMIENTO CIENTÍFICO y/o TECNOLÓGICO y a la RESOLUCIÓN de los PROBLEMAS

Los resultados de este trabajo permitirán ampliar el conocimiento sobre los mecanismos de acción involucrados en la respuesta gastroprotectora de las plantas ensayadas. Esta información será utilizada para determinar sus posibles usos terapéuticos, teniendo en cuenta que la presentación de úlceras puede ser la consecuencia de varios factores injuriantes.

El hallazgo de plantas o extractos obtenidos a partir de partes de éstas, que expresen sus propiedades gastroprotectoras por varios mecanismos resulta de gran interés clínico. Ya que sería posible el empleo de ellas con mayores posibilidades de éxito en casos donde la etiología es confusa.

	Desarrollo de exámenes complementarios	Evaluación de efecto sobre motilidad gástrica, producción de mucus, determinación de pH																

Año 2010

Objetivos	Acciones	Metodología que se utilizará	Cronograma de realización															
			E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D				
Análisis de resultados e implementación de ensayos complementarios no programados (si fuera necesario confirmar resultados)	Evaluación de resultados	Estudio comparativo entre las especies vegetales estudiadas	+	+	+	+												
	Desarrollo de exámenes complementarios	Estudios de toxicidad, efecto antioxidante, determinación de pH de los extractos Evaluación de efecto sobre motilidad gástrica, producción de mucus, determinación de pH				+	+	+	+									
	Análisis de resultados y Redacción de publicaciones.								+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

7. INFRAESTRUCTURA y PRESUPUESTO

7.1. INFRAESTRUCTURA, EQUIPAMIENTO, SERVICIOS y OTROS BIENES REQUERIDOS por el PROYECTO YA EXISTENTES en esta INSTITUCIÓN:

El Centro de Investigación y Desarrollo de Fármacos de la FCV, UNLPam dispone en su Banco de Extractos Vegetales de las muestras necesarias para desarrollar los estudios propuestos.

Además el Centro posee todos los equipamientos y comodidades necesarias para el desarrollo del proyecto.

El Bioterio de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLPam proveerá los ratones para los bioensayos.

Los bioensayos serán llevados a cabo en el Laboratorio del CIDEF

7.2. INFRAESTRUCTURA, EQUIPAMIENTO, SERVICIOS y OTROS BIENES NECESARIOS para el PROYECTO y NO DISPONIBLES en esta FACULTAD

- 10 jaulas para inmovilizar ratones.
- Una cámara fotográfica digital con zoom óptico y función macro que permita acercamientos hasta 7 cm del espécimen a fotografiar.
- Un monitor LCD de 19" para PC.
- Un peachímetro digital.

7.3. JUSTIFICACIÓN de la ADQUISICIÓN o FACTIBILIDAD de ACCESO en CONDICIONES de PRESTAMO o USO de los BIENES NO EXISTENTES en esta INSTITUCIÓN

El CIDEF posee los elementos necesarios para desarrollar los ensayos previstos con excepción de la cámara fotográfica. Sin embargo hay equipamiento que quedó obsoleto y debe ser reemplazado.

Las fotografías que se utilizan para evaluar las lesiones de la mucosa gástrica son tomadas en la actualidad con una cámara fotográfica particular, ya que las existentes en la facultad no poseen función super macro ni la resolución que posibilite acercamientos de hasta 7 cm.

Se cuenta con una PC con monitor de 16 pulgadas que no posee la resolución necesaria para utilizar el analizador de imágenes Scion Image 6.0 empleado para medir el área ulcerada en las fotografías digitalizadas. Se solicita un monitor LCD de 19" que permite ampliar el zoom facilitando la operación.

El laboratorio del CIDEF no cuenta con peachímetro digital para realizar estas determinaciones. Considerando las características físico-químicas de los extractos deberá adquirirse un equipo similar al utilizado para medir pH en alimentos.

Teniendo en cuenta que los extractos que se utilizarán para los bioensayos deben ser repuestos por el CIDEF para mantener completa la colección, se contemplará en el rubro "Bienes de consumo" indicado en el punto 7.5. los insumos que son utilizados para el desecado y conservación de los extractos que deben reponerse.

7.4. ESPECIFICAR otras FUENTES de FINANCIACIÓN:

7.5. PRESUPUESTO ESTIMADO para el PROYECTO PRESENTADO (Total y Anual)

7.5.1. PRESUPUESTO ESTIMADO POR AÑO PARA LA EJECUCIÓN DEL PROYECTO

Año 2008

Equipamiento e Infraestructura.....	\$ 6.500
Bienes de Consumo.....	\$ 600
Bibliografía.....	\$ 300
Viajes.....	\$ 500
Personal de Apoyo.....	\$ -
Otros (especifique)	\$ -
TOTAL.....	\$ 7.900

Año 2009

Equipamiento e Infraestructura.....	\$ 3.000
Bienes de Consumo.....	\$ 2.800
Bibliografía.....	\$ 300
Viajes.....	\$ 500
Personal de Apoyo.....	\$ -
Otros (especifique)	\$ -
TOTAL.....	\$ 6.600

Año 2010

Equipamiento e Infraestructura.....	\$ -
Bienes de Consumo.....	\$ 1000
Bibliografía.....	\$ 300
Viajes.....	\$ 500
Personal de Apoyo.....	\$ -
Otros (especifique)	\$ -
TOTAL.....	\$ 1.800

7.5.2. PRESUPUESTO ESTIMADO PARA LA EJECUCIÓN TOTAL DEL PROYECTO**Año 2008 - 2010**

Equipamiento e Infraestructura.....	\$ 9.500
Bienes de Consumo.....	\$ 4.400
Bibliografía.....	\$ 900
Viajes.....	\$ 1.500
Personal de Apoyo.....	\$ -
Otros (especifique)	\$ -
TOTAL.....	\$ 16.300

* El Consejo Directivo adjudicará presupuesto a cada Proyecto de acuerdo a su Presupuesto de Ciencia y Técnica anual, tomando en cuenta las normas y criterios que el mismo determine.

BIBLIOGRAFÍA

- Alcaraz, M. J.; Hoult, J. R. (1985). Actions of flavonoids and the novel anti-inflammatory flavone, hypolaetin-8-glucoside, on prostaglandin biosynthesis and inactivation. Biochem Pharmacol. 34: 2477-2482.
- Arbos, J.; Zegri, A.; Lopez-Soriano, F. R. J.; Argiles, J. M. (1993). A simple method for determining the rate of gastrointestinal transit in the rat. Arch. Intern. Physiol. Bioch. Biophys. 101: 113-115.
- Brunton, L. L. (1996). Fármacos para el control de la acidez gástrica y el tratamiento de úlceras pépticas. En: Las bases farmacológicas de la terapéutica. 9° edición (J. G. Hardman, L. E. Limbird y A. Goodman Gilman, eds.). Ed. Interamericana McGraw-Hill, México D. F., México, pp. 965-980.
- Cavallini, M. E.; Andreollo, N. A.; Metze, K.; Araújo, M. R. (2006). Omeprazole and misoprostol for preventing gastric mucosa effects caused by indomethacin and celecoxib in rats. Acta Cir Bras. 21: 168-76.
- Cola Miranda, M.; Barbastefano, V.; Hiruma-Lima, C.; Calvo, T. R.; Vilegas, W.; Monteiro Souza Brito, A. R. (2006). Antiulcerogenic activity of *Indigofera truxillensis*. Kunth Biota Neotropica. 6: 12-15.
- Cox, P.; Balick, M. (1994). The ethnobotanical approach to drug discovery. Scientific American. 271: 82-87.
- Di Carlo, G.; Autore, G.; Izzo, A. A.; Maiolino, P.; Mascolo, N.; Viola, P.; Diurno, M. V.; Capasso, F. (1993). Inhibition of intestinal motility and secretion by flavonoids in mice and rats: structure-activity relationships. J. Pharm. Pharmacol. 45: 1054-1059.
- Evans, W. C., (1995). Acción farmacológica de las drogas vegetales. En: Farmacognosia. 13.a edición. Ed. Interamericana- Mc Graw-Hill, México D.F., México, pag 151-159.
- Filinger, E. (2000). Fármacos usados para el control de la acidez gástrica y el tratamiento de la úlcera gástrica. Acta Farm. Bon. 19: 133-142.
- Giordano, O. S.; Guerreiro, E.; Guzman, J. A.; Penissi, A. B.; Piezzi, R. S. (1997). Citoprotectores gastrointestinales obtenidos a partir de especies vegetales. Pren. Méd. Argent. 84: 890-899.
- Goel, R.K.; Maiti, R.N.; Tavares, I.A. (1996). Role of endogenous eicosanoids in the antiulcer effect of kaempferol. Fitoterapia. 67: 548-552.
- Gorriti Gutiérrez, A.; Zárate Otarola, R.; Jurado Texeira, B. (1998). Bioensayos en especies de bodens con actividad terapéutica. Cienc Invest. 1: 23-26.
- Güntner, C.; Barra, C.; Cesio, V.; Dellacassa, E.; Ferrando, L. (1999). Antioxidant properties of *Solidago chilensis* L. flavonoids. Pharmacognosy, Pharmacology, Phytomedicines, Toxicology, WOCPMAP-2: 159 - 162.

- Gürbüz, I.; Yesilada, E. (2007). Evaluation of the anti-ulcerogenic effect of sesquiterpene lactones from *Centaurea solstitialis* L. ssp. *solstitialis* by using various in vivo and biochemical techniques. *J Ethnopharmacol.* 13: 284-91.
- Hammad, H. H.; Abdalla, S. S. (1997). Pharmacological effects of selected flavonoids on rat isolated ileum: structure-activity relationship. *Gen. Pharmac.*, 28: 767-771.
- Hernández, C. A.; Gollón, M. V. (2002). Helicobacteres gástricos de perros y gatos: mínimo riesgo en salud pública. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias.* 17: 267-273.
- Hertz, W.; Sosa, V. (1988). Sesquiterpene lactones and other constituents of *Arnica acaulis*. *Phytochemistry.* 27: 155-159.
- Hiruma Lima, C. A.; Gracioso, J. S.; Bighetti, E. J.; Grassi Kassisse, D. M.; Nunes, D. S.; Brito, A. R. (2002). Effect of essential oil obtained from *Croton cajucara* Benth. on gastric ulcer healing and protective factors of the gastric mucosa. *Phytomedicine.* 9: 523-529.
- Jacobson, E. D. (1992). Circulatory mechanisms of gastric mucosal damage and protection. *Gastroenterology.* 102: 1788-1800.
- Khafagi, I.; Dewedar, A. (2000). The efficiency of random versus ethnodirected research in the evaluation of Sinai medicinal plants for bioactive compounds. *J. Ethnopharmacol.* 71: 365-376.
- Lee YH, Mollison KW, Cheng WD. (1971). The effects of antiulcer agents on indomethacin-induced gastric ulceration in the rat. *Arch Int Pharmacodyn Ther.* 191: 371-7.
- Lin, W. C.; Tan, T. W. (1994). The role of gastric muscle relaxation in cytoprotection induced by San-huang-xie-xin-tang in rats. *J. Ethnopharmacol.* 44: 171-179.
- Martín, M. J.; La Casa, C.; Alarcón de la Lastra, C.; Cabeza, J.; Villegas, I.; Motilva, V. (1998). Anti-oxidant mechanisms involved in gastroprotective effects of quercetin. *Z. Naturforsch.* 53: 82-88.
- Murakami, M.; Lam, S. K.; Inada, M. (1985). Pathophysiology and pathogenesis of acute gastric mucosal lesions after hypothermic restraint stress in rats. *Gastroenterology.* 88: 660 - 665.
- Robert, A.; Nezamis, J.; Lancaster, C.; Hanchar, A. (1979). Cytoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl and thermal injury. *Gastroenterology.* 77: 433-43.
- Sandoval, M.; Ayala, S.; Ore, R.; Loli, A.; Huamán, O.; Valdivieso, R.; Béjar, E. (2006). Capacidad antioxidante de la sangre de grado (*Croton palanostigma*) sobre la mucosa gástrica, en animales de experimentación. *An. Fac. med.* 67: 199-205.
- Takeuchi, K.; Suzuki, K.; Araki, H.; Mizoguchi, H.; Sugamoto, S.; Umeda. (1999). Roles of endogenous prostaglandins and nitric oxide in gastroduodenal ulcerogenic responses induced in rats by hypothermic stress. *J. Physiol.* 93: 423-431.

Toso, R. E. ; Boeris, M. A. (2005^a). Evaluación del efecto antiulceroso de *Acmella decumbens* y *Gnaphalium gaudichaudianum*. Memorias de la IV Jornada de Ciencia y Técnica. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Pampa. pag 9.

Toso, R. E. ; Boeris, M. A. (2005^b). Evaluación del efecto antiinflamatorio y protector gástrico de *Jodina rhombifolia*. Memorias de la IV Jornada de Ciencia y Técnica. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Pampa. pag 7.

Toso, R. E.; Steibel, P. E.; Troiani, H. O.; Oriani, D. S.; Ardoino, S.; Toribio, M.; Boeris, M. (2006). Búsqueda sistematizada de plantas con actividad farmacológica utilizando el Banco de Extractos Vegetales de plantas nativas y naturalizadas de la Provincia de La Pampa. Vol 8. Versión electrónica: <http://www.vet.unlpam.edu.ar/~matervet/revistanro8/indice.htm>.

Toso, R. E.; Skliar, M. I.; Verna, E. (2002). Modelo experimental para evaluar el tránsito gastrointestinal en ratones. *Ciencia Veterinaria*. 4: 44 – 48.

Toso, R. E.; Toribio, M. S.; Mengelle, P.; Boeris, P. (2007) Plantas de la Provincia de La Pampa, Argentina, con actividad gastroprotectora y antiespasmódica. *InVet*. Vol 9. Versión electrónica: <http://www.fvet.uba.ar/invet/lapampa.pdf>.

Yesilada, E.; Gurbuz, I.; Shibata, H. (1999). Screening of Turkish anti-ulcerogenic folk remedies for anti-*Helicobacter pylori* activity. *J. Ethnopharmacol.*, 3: 289 - 293.

Zolezzi, A. (1998). Tratamiento de la Úlcera Péptica. *Rev Gastroenterol Peru*. 18: 27-32.