
Evaluación del efecto antiulceroso del extracto acuoso y metanólico de las semillas de *lupinus mutabilis sweet* (tarwo, chocho) en ratas

Castañeda, C. B. *; Manrique M. R.**; Ibáñez V.L.***; Gamarra, C.F. ****; Galán, L.D. ****

RESUMEN

En la presente investigación realizada con semilla de *lupinus mutabilis sweet* se ha podido evaluar el efecto del extracto acuoso y del extracto metanólico sobre las lesiones producidas en la mucosa gástrica de ratas de acuerdo a la técnica de Lee. La indometacina en dosis superiores a 50 mg/Kg de peso produce lesiones lineales, engrosamiento y dilatación del intestino delgado, adhesiones, obstrucción parcial, inflamación granulomatosa transmural aguda y crónica, absceso en las criptas y fibrosis. El extracto acuoso en cocimiento, de *Lupinus mutabilis Sweet* fue administrado a la dosis de 2000mg/Kg de peso y el extracto metanólico a una dosis de 400mg/Kg.

Se utilizaron cuatro grupos de ratas machos de aproximadamente 250g de peso a las que se les acondicionó en el Bioterio de la Facultad y se les suministró alimento y agua *ad libitum*. Los animales fueron distribuidos en G1: Control, G2: Ranitidina, G3: Extracto acuoso en conocimiento del *Lupinus mutabilis Sweet* y G4: Extracto metanólico de *Lupinus mutabilis Sweet*. Las sustancias fueron administradas por vía oral, previo ayuno de 48 horas, media hora antes de la Indometacina. A las cinco horas, los animales fueron sacrificados; realizándose la laparotomía para extraer el estómago y observar las lesiones producidas. Macroscópicamente apreciamos un efecto antiulceroso estadísticamente significativo según la prueba del chi cuadrado, con una probabilidad de $p=0.0013$ Y microscópicamente una probabilidad de $p=0.0053$. Para el extracto acuoso en cocimiento se obtuvo un efecto antiulceroso igual al 60%; para la Ranitidina 57% y en menor proporción para el extracto metanólico (40%), pudiendo observarse la normalización de la arquitectura de la mucosa y la atenuación de la infiltración de granulocitos. La observación fue realizada por inspección macroscópica directa y microscópica confirmándose estadísticamente la existencia de propiedades antiulcerosas para el extracto acuoso al 10% en cocimiento por 10 minutos; lo cual podría constituir una alternativa terapéutica en el tratamiento de la úlcera gastroduodenal y además la acción protectora parece ser independiente de la secreción de ácido.

Palabras claves: Agentes antiulcerosos, *lupinus mutabilis sweet*, tarwi, chocho, mucosa gástrica, ratas, diclofenaco, indometacina.

ABSTRACT

In the present research, we have evaluated the effect of *Lupinus mutabilis Sweet's* seed, as watery and methanolic extracts on the gastric mucous of rats, following the Lee's method. Indometacin in doses higher than 50 mg per kg of weight causes lineal lesions, enlarging and dilatation of small intestine; partial obstruction, acute and chronic transmural granulomatous inflammation; abscess in the intestine's crypts and fibrosis. 2000 mg/kg of weight of the watery extract of the *Lupinus* was administered by mouth and 400 mk/kg of the methanolic extract by the same way.

We use four groups of ten male rats each one with 250 g of weight approximately that were previously conditioned in our laboratory supplying food and water *ad libitum*. The animals were distributed in four groups in aleatory way and they received saline solution, ranitidine, watery extract of *Lupinus* and methanolic extract of *Lupinus* respectively. All substances were administered by oral route 30 minutes before to administer Indometacina to the animals that were in fast for 48 hours. Five hours later the animals were sacrificed and submitted to laparotomy in order to observe the macroscopically anti ulcerogenic effect that was evident and statistically significant with a value of $p= 0,0013$; microscopically was $p= 0,0053$.

(*) Instituto de Genética y Biología Molecular, Facultad de Medicina, Universidad de San Martín de Porres.

(**) Instituto de Cataratas y Glaucoma.

(***) Instituto de Oftalmología (Ministerio de Salud)

The anti ulcerogenic effect was: 57 % for Ranitidine, 60 % for watery extract of *Lupinus* and 40 % for methanolic extract of *Lupinus*; besides we could observe normalization of gastric mucous architecture and lowering of granulocytes infiltration.

We found that both extracts of *Lupinus* protected the gastric mucous from the lesions caused by Indometacina and could be an alternative for the treatment of gastroduodenal ulcer.

Key Words: Antiulcerogenic agents, *Lupinus mutabilis* Sweet; Tarwi, Chocho, gastric mucous, rats, Diclofenac, Indometacin.

INTRODUCCION

Los AINEs o antiinflamatorios no esteroideos constituyen uno de los agentes terapéuticos más utilizados en la práctica diaria, bien como tratamiento de afecciones reumáticas o como parte del tratamiento sintomático o etiológico del dolor; no obstante, éstos presentan evidentes manifestaciones adversas a nivel gastrointestinal, siendo la gastrolesividad, una de las principales; atribuyéndose dicho efecto, entre otros, a la disminución de la síntesis de prostaglandinas, por inhibición de la COX (2), (4), (5), (10), (14), (15), (22).

Las poblaciones nativas utilizan las plantas, usando técnicas sencillas, dependiendo del nivel técnico del curandero, de los medios disponibles y la tradición. Sin embargo, para la investigación fitoquímica y farmacológica se deben realizar extracciones que sean reproducibles, cuantitativas, estables y eficientes para el efecto que se desea demostrar (1), (4), (7), (11), (12), (14).

Para el análisis fitoquímico preliminar se usan técnicas macro o micrométricas en tubo o capa fina y para el análisis fitoquímico y elucidación estructural, se usan técnicas de cromatografía en papel, capa fina (TLC) o columna, cromatografía líquida de alta performance (HPLC); cromatografía de gases; espectroscopía infrarroja; espectroscopia de masas; técnicas de refracción y cristalografía de rayos X; Resonancia Magnética Nuclear (MNR), etc. (14).

En nuestro país hacen falta planes a nivel nacional, que estimulen el desarrollo en el área de plantas medicinales y fitofármacos; por lo que se hace necesario promover, a nivel de los profesionales de la salud, el uso de los fitofármacos considerando al mismo tiempo, el marco legal correspondiente como parte de la ley general de medicamentos, teniendo en cuenta sus características especiales y la promoción de la agroindustria y procesos tecnológicos a través de planes gubernamentales que fijen prioridades nacionales, poniendo mayor interés en:

- a) Grupos de especies de plantas que sean del interés de la comunidad y que cubran las patologías más frecuentes del país (gastrointestinales, respiratorias, mucocutáneas, etc.).
- b) Grupos de especies de plantas con potencial de exportación (8), (12), (13).

Sin embargo, es importante indicar que el uso racional de las plantas medicinales tiene que estar basado en el Plan General de Salud, especialmente en la política de atención por niveles de complejidad; de tal manera que se identifique el tipo de productos vegetales que se prescriban en cada uno de los cuatro escalones de complejidad que tiene el sistema peruano. Con este objetivo es conveniente diseñar las normas de suministro y uso racional de las plantas en el Primer Nivel de Atención, diseñando previamente un Vademécum de Plantas Medicinales para uso de los profesionales de la salud y el público usuario, similar al que se ha publicado en los Estados Unidos de América (8), (17).

Observamos que en países vecinos existen varios grupos de investigadores que llevan a cabo proyectos de cooperación técnica con entidades empresariales y laboratorios privados en el área de productos fitoterapéuticos, así como en la optimización de la calidad y el desarrollo de técnicas de control, etc., a fin de evitar la competencia desleal entre los fitoterápicos y los suplementos dietéticos (2), (3), (9), (13), (16), (19), (20), (22). Actualmente, Alemania muestra un gran interés por el *lupinus mutabilis sweet* "chocho, tarwi".

Se conocen 300 especies de *lupinus* y el nombre deriva del griego *lype* (amargo, tristeza). Tanto los antiguos egipcios como los romanos y los peruanos conocieron el método de eliminación de ciertos compuestos amargos y de algunos tóxicos, por maceración de las semillas, previamente a su consumo (9), (16), (24).

Las semillas de *lupinus mutabilis sweet* han sido encontradas en restos arqueológicos: en tumbas de culturas desarrolladas en la costa peruana (Nazca) así como en representaciones de las culturas Tiahuanaco y Chavin.

Los cronistas españoles narran que durante la administración del Inca Yupanqui se establecieron en el Cusco depósitos de alimentos entre los que mencionan a los chochos o tarwi como alimento popular. Los autores creen que su cultivo se remonta a épocas anteriores a los Incas. En el año 1539 Fray Vicente Valverde, obispo del Cusco solicitaba al emperador Carlos V la creación de impuestos a los productos alimenticios para el sostenimiento de su diócesis. En su petición estaban los chochos considerados como los altramuces silvestres.

El género *lupinus* se encuentra distribuido en California, los Andes Peruanos y otros de Sudamérica. En el Perú crece en la costa, sierra y selva; procediendo la mayor parte de la Cordillera Andina, sierra norte (La Libertad, Cajamarca, Amazonas), sierra central (Ancash, Huánuco, Junín, la sierra de Lima) y sierra sur (Puna, Cusco y Apurímac).

Lupinus mutabilis sweet es usado por el poblador andino de nuestro país, como alimento y como planta medicinal en el tratamiento de las úlceras e inflamaciones; sin embargo, estos usos, hasta hoy, no cuentan con un respaldo científico; por lo que en el Centro de Investigación de Medicina Tradicional Andina de la Facultad de Medicina de la USMP, se están realizando estudios sistematizados de plantas medicinales, en animales de laboratorio. *Ellupinus mutabilis sweet* (*chocho*), es una de las plantas, que por sus indicaciones tradicionales, está siendo estudiada ampliamente en nuestro laboratorio; habiéndose publicado anteriormente el efecto antiinflamatorio de la misma (10), (18), (23), (24), (25).

PARTE EXPERIMENTAL

MATERIAL Y METODOS

- 1. Material Biológico:**
Semillas de *lupinus mutabilis sweet*, ratas albinas consanguíneas cepa Holtman machos con 250g de peso corporal promedio.
- 2. Material de laboratorio:**
Sonda metálica para administración peroral, balanza analítica, jaulas anticoprofágicas, bomba de vacío, cromatoplacas y equipo de disección.
- 3. Material químico-farmacológico:**
Metanol Q. P, suero fisiológico, agua destilada, Indometacina.

PROCEDIMIENTO

Recolección, identificación taxonómica. La especie vegetal utilizada fue el *lupinus mutabilis sweet*. "Chocho", "tarwi", recolectada en la estación experimental "El Mantaro" U.N.C.P-Huancayo, la cual fue identificada por el Museo de Historia Natural de la UNMSM. La muestra fue estabilizada previo secado y molienda.

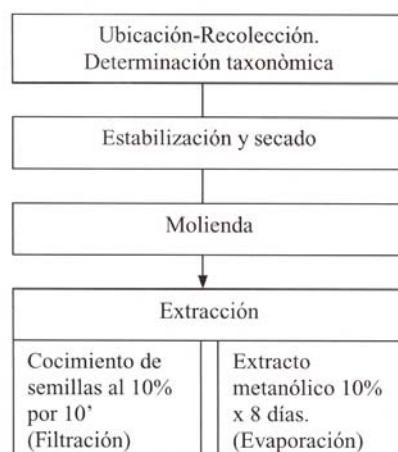


Figura 1. Diagrama de Flujo. Obtención de Extractos.

El Diagrama de Flujo para la preparación de la muestra y extracción de constituyentes para evaluar la actividad antiulcerosa de las semillas de *lupinus mutabilis sweet*, se presenta en la Fig. 1.

Para evaluar la actividad antiulcerosa se trabajó con 40 ratas, formándose 4 grupos de investigación.

Las sustancias fueron administradas por vía oral utilizando sondas *ad hoc* para administración intragástrica, previo ayuno de 48 horas antes de iniciar los experimentos y dejándolos únicamente con agua *ad libitum*. Como agente ulcerogénico se utilizó la indometacina a la dosis de 75mg/Kg. El fármaco patrón, ranitidina, fue disuelto en agua destilada a fin de administrar una dosis de 100mg/Kg de peso; de la siguiente manera:

- Grupo 1: (Control negativo). Tratado únicamente con el vehículo, agua destilada.
- Grupo 2: (Control positivo). Tratado con el fármaco control: Ranitidina.
- Grupo 3: (Lote problema). Tratado con el extracto acuoso en cocimiento al 10% de semillas de *lupinus mutabilis sweet*.
- Grupo 4: (Lote problema 1). Tratado con el extracto metanólico al 10% de *lupinus mutabilis sweet*.

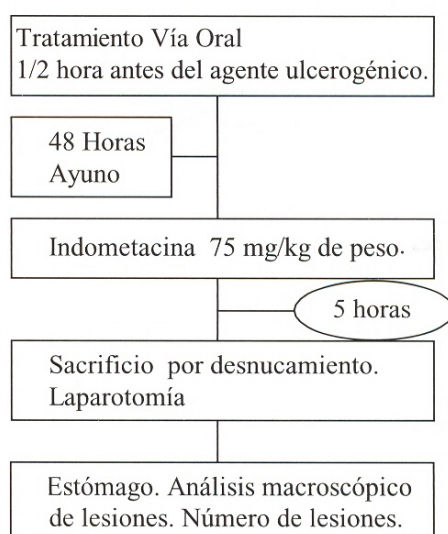


Figura 2. Procedimiento de la Técnica de Lee.

Las sustancias fueron administradas media hora antes de la administración de indometacina. Cinco horas después de la administración de indometacina, los animales fueron sacrificados por desnucamiento; inmediatamente después se les realizó la laparotomía, en el tercio anterior de la línea media abdominal, extrayéndose el estómago, el cual fue abierto lavándose cuidadosamente con una corriente suave de agua.

Se extendieron los estómagos sobre una tabla de corcho y tecnopor, mediante alfileres, para evaluar el número y tamaño de lesiones de la mucosa gástrica.

La escala convencional para calificar el grado y aspecto de la mucosa sometida a inducción de úlcera gástrica fue:

GRADO	ASPECTO DE LA MUCOSA
0	Normal
LEVE	Ligero edema y congestión
MODERADO	Regular edema, congestión y sangrado
SEVERO	Puntos de erosión, con edema, congestión y sangrado.
MUY SEVERO	Marcadas erosiones, pequeñas o amplias y extensas, o úlceras.

El índice de lesión gástrica y el grado de ella fue medido por:

- Pérdida de mucosa, decoloración mucosa, edema y hemorragia.	1 punto
- Menos de 10 petequias.	2 puntos
- Más de 10 petequias.	3 puntos
- Úlceras de menos de 1 mm.	2 puntos.
- Úlceras de más de 1 mm.	3 puntos
- Úlceras perforadas	4 puntos

La sumatoria fue considerada como índice de lesión y está expresada en porcentaje de inhibición respecto al índice de ulceración del lote control.

$$\% \text{ inhibición IIU} = (\text{IUC} - \text{IUP} / \text{IUC}) \times 100$$

Donde IIU = porcentaje de inhibición del índice ulceroso.
IUC = índice ulceroso del control
IUP = índice ulceroso del problema.

Escala para calificar el grado de úlcera gástrica según el índice ulceroso (IU) PARA RATAS.

IU 0 = Normal
IU Menor a 10 = Leve
IU 10-20 = Moderado
IU 20-30 = Severo
IU Mayor a 30 = Muy severo

Posteriormente fueron depositados, los estómagos, en frascos con formol al 10% enviados al Laboratorio de Patología para los estudios microscópicos donde se procedió de la siguiente manera:

- a) Después de la descripción macroscópica del estómago de las ratas, se realizaron cortes representativos y se colocaron en el portacasete.
- b) Después, el portacasete pasó por varias etapas:
 - 1) Deshidratación con alcohol ascendente 85^a, 90^a, 95^a hasta llegar al alcohol absoluto.
 - 2) Aclaración con Xilol para aclarar los tejidos. El alcohol no es permisible con la parafina.
 - 3) Inclusión con parafina líquida para formar el bloque, se abrió y se puso en un molde base.
 - 4) Placa fría. Aproximadamente por 15' para que se solidifique.
 - 5) Micrótopo. Se procede a hacer cortes de 3,5 um a 4 um que son colocados en una lámina portaobjetos.
 - 6) Pasa a una estufa para desparafinar.
 - 7) Coloración Hematoxilina Eosina.
 - 8) Microscopio.
 - 9) Se procedió a colocar los datos en sus respectivas tablas para luego realizar la cuantificación de los datos observándose y cuantificándose el daño por apreciación macroscópica y microscópica de úlceras.

RESULTADOS

Identificación Botánica.

DIVISIÓN : Angiospermae
CLASE : Dicotyledoneae
SUB CLASE : Archichlamydeae
ORDEN : Rosales
FAMILIA : FABACEAE/LEGUMINOSAE
GENERO : Lupinus
ESPECIE : Lupinus mutabilis Sweet
NOMBRE VULGAR : Chocho.

Los resultados son consignados en las tablas y gráficas que presentamos a continuación. Los mismos fueron evaluados estadísticamente para determinar su validez estadística (Tabla N°1).

Tabla 1. Evaluación Antiulcerosa.

GRUPOS	DOSIS	% DE EFECTO ANTIULCEROSO
CONTROL	5ml/Kg	0%
RANITIDINA	100 mg/Kg	57%
EXT. ACUOSO	2000 mg/Kg	60%
EXT. METANOLICO	400 mg/Kg	40%

Tabla 2. Evaluación Macroscópica.

Grupo	Nº animales	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
Cont.	10	0	2	0	8
Ran.	10	0	4	2	4
AcLu	10	6	0	2	2
MeLu	10	5	0	3	2

Probabilidad de acuerdo a la prueba de chi cuadrado $p=0.0013$.

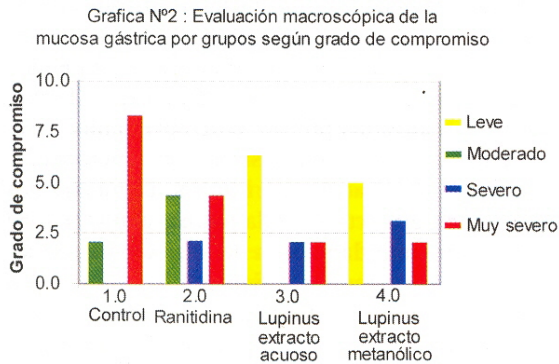


Tabla 3. Evaluación Microscópica.

Grupo	Nº animales	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
Cont.	10	0	1	4	5
Ran.	10	3	2	2	4
AcLu	10	4	3	3	2
MeLu	10	2	6	2	0

Probabilidad de acuerdo a la prueba del chi cuadrado= 0.0056.

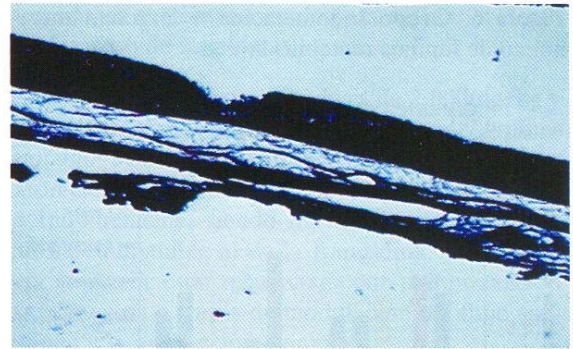


Figura 3: Grupo Indometacina + Extracto metanólico de lupinus mutabilis sweet.

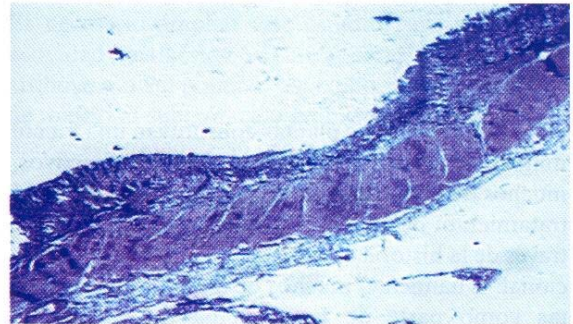


Figura 4: Grupo Control positivo: Indometacina + Ranitidina.



Figura 5: Grupo Indometacina + Extracto acuoso en cocimiento de lupinus mutabilis sweet.

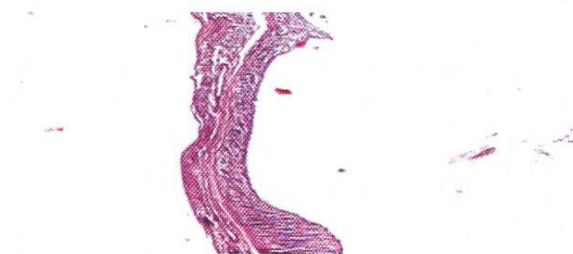


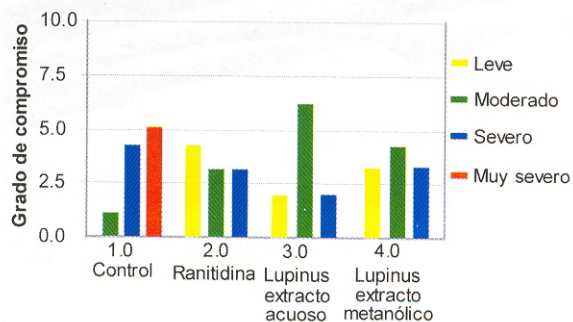
Figura 6: Grupo Indometacina + Extracto metanólico de lupinus mutabilis sweet.

(*) Instituto de Genética y Biología Molecular, Facultad de Medicina, Universidad de San Martín de Porres.

(**) Instituto de Cataratas y Glaucoma.

(***) Instituto de Oftalmología (Ministerio de Salud)

Grafica N°3 : Evaluación microscópica de la mucosa gástrica por grupos según grado de compromiso



DISCUSION

Es indudable que las plantas constituyen una fuente inagotable de una serie de principios activos, muchos de los cuales han sido de gran utilidad en el tratamiento de diversas patologías, conocidas a través de la historia, sobre todo en la medicina tradicional. Igualmente, muchos de los usos de las plantas como parte de la medicina tradicional, se encuentran a nivel de testimonios, por lo que se hace indispensable el estudio sistematizado de las mismas por parte de las instituciones científicas con el objeto de validar los usos tradicionales. Asimismo, a nuestro entender, en forma equivocada, se difunde información incorrecta acerca de las plantas medicinales, afirmándose, muchas veces, de que no se trata de sustancias químicas y, como tal, son inócuas. Sabemos que los diferentes metabolitos de las plantas, a los que deben sus diferentes acciones, varían significativamente no sólo en las diferentes especies, sino que aún en la misma especie, los contenidos son diferentes, dependiendo de lugar de origen de la planta, de la época de adquisición de la misma y de la parte de la planta que se haya estudiado. Lo anteriormente expuesto hace absolutamente necesario catalogar la planta desde el punto de vista etnobotánico y realizar los estudios fitoquímicos y farmacológicos básicos y clínicos con la mayor rigurosidad científica posible. Una vez validados científicamente los efectos atribuidos a las plantas por la medicina tradicional, es también indispensable contar con normas sanitarias que regulen el uso de plantas medicinales y ofrezcan seguridad a los usuarios de las mismas. Sería ideal que una vez confirmada una determinada acción de una planta, pudiera identificarse él o los principios activos responsables de tal acción; de esta manera se podrá registrar el principio activo como un nuevo fármaco y cuando esto no sea posible se podrá reducir los riesgos secundarios potenciales de las plantas de uso en nuestro medio. En la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres hemos decidido realizar el estudio sistematizado de las plantas medicinales del país, priorizando el estudio de las mismas, según su utilización como parte de la medicina tradicional y los programas de investigación de la Institución. Una de las plantas que, en forma sistematizada, estamos estudiando en nuestro Instituto de Investigaciones, es *ellupinus mutabilis sweet*, conocido vulgarmente como choco o tarwi. Se trata de una leguminosa oriunda de los Andes Sudamericanos y cuyas semillas, previamente desamargadas, y en cocimiento, son consumidas por la comunidad andina como alimento y como medicamento. La planta estudiada por nosotros, fue recolectada en la estación experimental "El Mantaro" U.N.C.P-Huancayo e identificada en el Museo de Historia Natural de la UNMSM. En estudios previos, en el Instituto de Investigaciones de nuestra Facultad, hemos encontrado en las semillas, la presencia de alcaloides, esteroides, fenoles, azúcares reductores, aminoácidos libres, saponinas y taninos. En estudios farmacológicos realizados previamente apreciamos efectos antiinflamatorios, analgésicos y antimicrobianos frente a algunas bacterias y hongos. Demostramos que en ratas, el efecto antiinflamatorio equivale al 60 % del efecto antiinflamatorio del diclofenaco, antiinflamatorio no esteroideo. Sabiendo que el efecto antiinflamatorio, analgésico y antitérmico son comunes a los AINES y que, a su vez, éstos presentan sus mayores efectos secundarios a nivel de la mucosa gástrica y en estudios preliminares encontramos que el extracto acuoso de las semillas del lupinus no presentan efecto gastrolesivo, comparado con el mismo Diclofenaco, hemos querido estudiar este mismo principio para ver el efecto que pudiera tener en el tratamiento de las úlceras gástricas experimentales producidas por la Indometacina; habiendo comprobado que las semillas de *lupinus mutabilis sweet*, bajo la forma de extracto acuoso en cocimiento al 10% y el extracto metanólico al 10% muestran un efecto antiulceroso, al disminuir las lesiones inducidas por Indometacina. De los estudios de toxicidad realizados en una investigación anterior se tiene que la DL50 del extracto acuoso es de 3500mg/kg y de los alcaloides fue de 600mg/Kg, que de acuerdo a los criterios de Williams, permitiría clasificada

en el grupo de ligeramente tóxicas. En la Tabla N° 2 apreciamos los hallazgos macroscópicos de las mucosas gástricas de los diferentes grupos estudiados. En primer lugar, vemos que el 80% de los animales del grupo control presentó lesiones caracterizadas por edema, congestión y sangrado severo, correspondiendo al final a un compromiso muy severo de la mucosa gástrica.

Por el contrario, los animales integrantes del grupo que recibió Ranitidina mostraron lesiones moderadas (40%), severas (20%) y muy severas (40%); el extracto acuoso en cocimiento de lupinus mostró lesiones leves (60%), severas (20%) y muy severas (20%). Igualmente, en el grupo tratado con extracto metanólico apreciamos lesiones leves (50%), se veras (30%) y muy severas (20%). Es posible que la discreta mayor lesividad gástrica observada con el extracto metanólico de lupinus, en relación al extracto acuoso, esté en relación al disolvente orgánico utilizado.

Un hallazgo importante encontrado en el estudio de *lupinus mutabilis sweet*, es que éste posee efecto antiinflamatorio y analgésico, comparable al de los AINEs, pero sin compartir sus efectos gastrolesivos, y por el contrario, es capaz de contrarrestar los efectos de la Indometacina sobre la mucosa gástrica, en forma equiparable a la Ranitidina; lo cual nos indica que probablemente el mecanismo de acción del lupinus es diferente al mecanismo analgésico y antiinflamatorio de los AINEs, abriéndonos una enorme puerta a la investigación de esta planta para determinar cuál o cuáles son los principios activos responsables de estos efectos y, finalmente, cuál el mecanismo de acción.

Finalmente, el análisis estadístico realizado de los resultados obtenidos en los diferentes grupos de estudio, de la acción protectora *dellupmus mutabilis sweet*, de la mucosa gástrica sobre las lesiones producidas por la Indometacina, nos indica que es altamente eficaz, siendo las diferencias estadísticamente significativas.

CONCLUSIONES

Del presente estudio podemos extraer las siguientes conclusiones:

- 1) La Indometacina, en la dosis y vía de administración utilizadas, produjo lesiones gástricas severas en todos los animales del grupo control, constituyendo un excelente método para evaluar el efecto antiulceroso de las plantas.
- 2) Los extractos acuoso a la dosis de 2,000mg/kg y metanólico a la dosis de 400mg/kg, de *lupinus mutabilis sweet*, administrados por vía oral, presentaron efecto protector de la mucosa gástrica frente a la Indometacina, siendo mayor el del extracto acuoso, equiparable al de la Ranitidina. Dicha protección puede estar relacionada con una protección de la mucosa a través de modulación del flujo sanguíneo y la producción de mucus.
- 3) Se requieren estudios posteriores para determinar él o los principios activos y dilucidar sus mecanismos de acción.

Es necesario ampliar este estudio para evaluar la actividad analgésica y anticancerígena que se le atribuye a nivel popular, así como realizar estudios de toxicidad subcrónica y crónica para obtener una mayor seguridad en su uso.

Dr. Benjamín Castañeda
Facultad de Medicina Humana
Universidad de San Martín de Porres.

BIBLIOGRAFIA

1. AGUWA, C. C.; LAWAL, A. M., Pharmacologic studies on the active principles of *Calliandra portoticensis* leaf extracts. *J-Ethnopharmacol.* Jan; 22(1): 63-71, 1994.
2. ALARCÓN DE LA LASTRA, C.; LÓPEZ, A.; MOTILVA, V. Gastroprotección and prostaglandin E2 generation in rats by flavonoids of *Dittrichia viscosa*. *Planta Med.* Dec; 59(6): 497-501, 1993.
3. ALARCÓN DE LA LASTRA, C.; MARTÍN, M. J. Antiulcerogenicity of the flavonoid fraction from *Bidens aurea*: comparison with Ranitidine and Omeprazole. *J. Ethnopharmacology.* May; 42(3): 161-8, 1994.

4. ÁLVAREZ, A; QUINTERO, M.; LARIONOVA, M.; MANZINI, M. E.; GARCÍA, H.; CUEVAS, M. Evaluación de la actividad antiulcerosa de un extracto total y de tres extractos obtenidos por fraccionamiento fitoquímico de *Bidens pilosa* L. *Rev Cubana Farm* 1990; 24(2):297-303.
5. ALONSO, Jorge Rubén. *Fitoterapia en patología gastroentérica. Tratado de Fitomedicina: Bases Clínicas y Farmacológicas.*
6. ANTÚNEZ DE MAYO LO, S. *La nutrición en el Antiguo Perú.* Editorial del Banco de Reserva del Perú. 1985.
7. ARROYO, A. "Efectos del Extracto acuoso de las hojas de *Piper angustifolium* R&P (Matico) sobre la úlcera gástrica inducida en animales de experimentación. Tesis para optar el grado académico de Doctor en Farmacia y Bioquímica. Facultad de Farmacia. UNMSM. 1998.
8. CABIESES, F. *Apuntes de Medicina Tradicional TOMO II* A&B Editores; Diselpesa. Lima-Perú, 1993.
9. CAMACHO, S. L; URIBE, V L. Intoxicación por agua de *lupinus mutabilis* "Chocho". *Soco Peruana de Medicina Int.* 1995; 8:35-37.
10. CASTAÑEDA, C. B.; MANRIQUE, M. R.; IBÁÑEZ, V L. "Evaluación del efecto antiinflamatorio del extracto acuoso de las semillas del *lupinus mutabilis* sweet "tarwi, chocho", en animales de experimentación. *Revista Horizonte Médico.* Diciembre 2002; *pago* 35.
11. CHIFA, C. Facultad de biología. Universidad Nacional del Noreste. Argentina Primer Simposio Internacional de Plantas Medicinales y Fitoterapia FITO 200129. Nov-Dic. Lima-Perú. Instituto de Fitoterapia Americano; *pago* 29, 2001.
12. CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo RED X.C. Red Iberoamericana de Productos Fitofarmacéuticos (RIPROFITO). la Reunión de Coordinación Internacional, Antigua Guatemala; 28 de setiembre al 01 de octubre de 1996.
13. CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. "Manual de Técnicas de Investigación; *pago* 140-141; 1995.
14. CYTED. Publicación del Convenio Andrés Bello (CAE) y el Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. "Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos". Santa Fe de Bogotá, D. c.; *pago* 75-76 y 173-174. Colombia, 2000.
15. ESPEJO Y Col. Úlcera péptica Gastroenterología II Soc. de Gastroenterología del Perú. 1993.
16. FUERTES, R. C. Flavonoides y Alcaloides de *Lupinus ballianus* C.P Smith con actividad Antibacteriana y Antifúngica. *Revista Ciencia & Investigación de la Facultad de Farmacia y Bioquímica.* UNMSM. 1(2);71-80. 1998.
17. GARCÍA, U. Diseño de una Política de Salud con Plantas Medicinales. Primer Simposio Internacional de Plantas Medicinales y Fitoterapia. FITO- 2001. Del 29 de noviembre al 01 de diciembre. Lima-Perú. Instituto de Fitoterapia Americano; *pago* 59; 2001.
18. Juri H.; José. A Palma. Principios de Bioestadística. *Rev. de la Fed. Arg. de Cardiología,* 1992; 21(4):381-3.
19. LEE, Y H.; MOLLISON, K. W; CHENG, W D. The effects of antiulcer agents on indomethacininducedgastric ulceration in the rato *Arch Int Pharmacodyn Ther;* 191:370-7; 1971
20. LONG, J. F; et al. Gastric Antisecretory and cytoprotective activities. *The J of Pharm, & Exp. Therap.* Vol 226 SCH28080 N° 1; 1983.
21. MACBRIDE, J. F. *Flora of Peru.* Publ. Field Museum Natural History Bot. Tom II 1937.
22. 22. SAINZ, S. R. Antiinflamatorios no esteroideos y lesiones gastroduodenales. Servicio de aparato digestivo del Hospital Clínico Universitario de Zaragoza. España.
23. SARTOR, R. B.; BENDER, D. E.; HOLT, L. Susceptible of inbred rat strains to intestinal inflammation induced by indomethacin *Gastroenterology,* 102: A690. 1992.
24. TRISTÁN, V M. Estudio Fitoquímico y antimicrobiano de *Lupinus ballianus* C.P Smith "Jera" 1998. Facultad de Farmacia UNMSM.
25. VAISBERG, J. A; MILLA, M.; PLANAS, M.; CÓRDOVA, J. L. Y col. Taspina is the cicatrizant principle in sangre de grado from *Croton Lechleri.* *Planta Médica* 5: 140-13,1989.