

EFFECTO CITOPROTECTOR DE EXTRACTOS DE *CENTAUREA SOLSTITIALIS* SOBRE LESIONES GÁSTRICAS INDUCIDAS POR ESTRÉS EN RATAS

Toso, R.E.¹; Skliar, M.I.²

RESUMEN

Residuos de extractos acuosos, metanólicos y clorofórmicos de flores de *Centaurea solstitialis* L. Compositae, comúnmente llamada Abrepuño, fueron resuspendidos con una mezcla de excipientes, Tween 80 (T80) y Carboximetilcelulosa (CMC) y administrados por medio de sonda gástrica a ratas Wistar hembras con el objeto de estudiar las propiedades citoprotectoras de la planta sobre las úlceras provocadas por estrés por inmersión en agua. El ensayo se llevó a cabo administrando a un grupo de cinco ratas T80 + CMC como testigo. Otros cuatro grupos, de igual número de animales, fueron tratados con residuos acuoso (a), metanólico (b), metanólico-clorofórmico (1:1) (c) y clorofórmico (d), todos ellos resuspendidos en una mezcla de T80 + CMC. En los grupos a, c y d la prevención de úlceras fue de un 100%, mientras que en el grupo b se logró un 78% ($p < 0,05$). Los extractos metanólicos y clorofórmicos, que contienen flavonoides y sesquiterpeno lactonas respectivamente, serían los responsables de los efectos citoprotectores evidenciados por estos resultados.

Palabras claves: *Centaurea solstitialis*, flavonoides, sesquiterpeno lactonas, citoprotección.

Cytoprotective effect of *Centaurea solstitialis* extracts on gastric lesions induced by stress in rats.

SUMMARY

Residues aqueous, methanolic and chloroformic extracts of *Centaurea solstitialis* L. Compositae flowers, commonly known as Abrepuño, were resuspended with an excipient mixture of Tween 80 (T80) and Carboxymethyl cellulose (CMC) and administered through a gastric catheter to female Wistar rats in order to study the cytoprotective properties of the plant on ulcers caused by stress due to immersion in water. The essay were carried out by administering T80 + CMC to a group of five rats as control. Other four groups, of equal number of animals, were treated with aqueous (a), methanolic (b), methanolic-chloroformic (1:1) (c) and chloroformic residues, all of them resuspended in a mixture of T80 + CMC. Prevention to ulcers in a, c and d groups was 100%, whereas a 78% was reached in group b ($p < 0.05$). The methanolic and chloroformic extracts, which contain flavonoid and sesquiterpene lactones respectively, would be responsible for the cytoprotective effects shown by these results.

¹ Cátedra de Farmacología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLPam, 116 y 5 (6360) General Pico, ctecnica@vet.unlpam.edu.ar.

² Cátedra de Farmacognosia, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, UNS, San Juan 670 (8000) Bahía Blanca, mskliar@criba.edu.ar.

Key words: *centaurea solstitialis*, flavonoids, sesquiterpene lactones, cytoprotection.

INTRODUCCIÓN

Recientes investigaciones sobre *Centaurea solstitialis* L. Compositae (nombre vulgar Abrepuño), planta originaria de la región del Mediterráneo (Turner et al., 1989), adventicia en América (Lamberto et al., 1997), han demostrado que posee significativa actividad citoprotectora (Yesilada et al., 1993). En nuestro país, se desconoce su uso medicinal y no se han realizado estudios que determinen que la CS sea efectiva para el tratamiento de úlceras gástricas, siendo conocida como una maleza tóxica para los equinos, en los que produce una encefalomalacia nigropálida (Hamburger et al., 1993). La CS de la zona pampeana ha sido identificada como *Centaurea solstitialis* L. subespecie *solstitialis*^a (CS).

Esta maleza, que se encuentra distribuida en diversas áreas geográficas del mundo, se propaga principalmente mezclada con semillas de alfalfa (Maddox et al., 1985), llegando posiblemente de esa forma a nuestro país, proliferando en las provincias de Buenos Aires, Entre Ríos, Santa Fe, Córdoba y La Pampa que conforman la llamada pampa húmeda (Gallo, 1979).

Investigaciones fitoquímicas de la planta revelan la presencia de poliacetilenos, flavonoides, triterpenoides y numerosos sesquiterpeno lactonas (SQL) (Hamburger et al., 1993).

El objetivo del presente trabajo fue investigar si la CS que se desarrolla en Argentina posee las propiedades citoprotectoras reportadas por Yesilada et al. (1993) en estudios realizados con ejemplares originarios de Turquía.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Las flores del Abrepuño fueron recolectadas en la zona rural de General Pico, Departamento Maracó, Provincia de La Pampa. Un ejemplar fue depositado en el Herbario SRFA de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de La Pampa.

Animales y vía de administración:

Se utilizaron ratas Wistar hembras de 200 g de peso y la administración *per os* se realizó inmediatamente antes de inducir las úlceras.

Administración y dosis:

La cantidad de extracto obtenido de 5 g de flores secas por animal fue administrada por sonda gástrica suspendida en una solución de Carboximetilcelulosa (CMC) y Tween 80 (T80).

El ensayo se llevó a cabo administrando a un grupo de cinco ratas T80 + CMC como testigo. Otros cuatro grupos, de igual número de animales, fueron tratados con extractos: acuoso (a), metanólico (b), metanólico-clorofórmico (1:1) (c) y clorofórmico (d), todos ellos resuspendidos en una mezcla de T80 + CMC.

Preparación de extractos:

Excipiente (Ex): para diluir los extractos se utilizó una solución de CMC al 0,5% y T80 al 0,05% en partes iguales.

Extracto acuoso: se colocaron 25 g de flores de CS secas en 250 ml de agua destilada en ebullición durante

^a Determinada por el Dr. Carlos Villamil / IV-97 apud Tutin, T. G. et al. Flora Europea - Vol. IV - 1976.

20 minutos (2x). Se juntaron los extractos, se filtraron con papel de filtro y luego se llevó a sequedad a presión reducida. El residuo se resuspendió con 15 ml de Ex, obteniéndose 5 dosis de 3 ml cada una.

Extracto clorofórmico: se colocaron 75 g de flores secas en 750 ml de agua destilada en ebullición durante 20 minutos (2x). Se juntaron los extractos, se filtraron y se llevaron a sequedad hasta consistencia butirosa. Se resuspendió el residuo con cloroformo, agitando durante 12 hs. Se filtró, dejando el residuo (RM) para obtener el extracto metanólico, mientras que la fracción clorofórmica se llevó a sequedad y se retomó con 15 ml de T80 (ET80). A 7,5 ml del extracto se le agregó 7,5 ml de CMC obteniéndose 5 dosis de 3 ml cada una.

Extracto metanólico: al residuo RM se le agregó metanol y se lo agitó durante 3 h (2x), se juntaron los extractos y se llevaron a sequedad a presión reducida. Se retomaron con 15 ml de CMC (ECMC). A 7,5 ml del extracto se le agregó 7,5 ml de T80 obteniéndose 5 dosis de 3 ml cada una.

Extracto metanólico – clorofórmico: los 7,5 ml restantes de ET80 y los 7,5 ml restantes de ECMC se mezclaron (1:1) obteniéndose 5 dosis de 3 ml cada una.

Método de producción de úlceras:

Las ratas fueron inmovilizadas en jaulas con celdas individuales y sumergidas hasta el cartílago xifoides en agua a 22 – 24 °C durante 5 hs.

Recuento de úlceras:

Luego de sacrificadas las ratas, se les extrajeron los estómagos. Estos fueron insuflados con solución fisiológica, se fijaron durante 6 hs. en formol al 10%, se los abrió por la curvatura mayor y se observaron con lupa. La suma de las úlceras contadas en cada grupo fueron utilizadas para estimar el efecto citoprotector en relación al grupo testigo. Las diferencias fueron analizadas por medio del Test “t” de Student.

RESULTADOS

El estrés por inmersión produjo severas lesiones en la mucosa gástrica de todos los animales del grupo control. En la Figura 1 pueden observarse las úlceras pequeñas y diseminadas en toda la mucosa, lesiones típicas de la úlcera gástrica aguda.

Los distintos extractos de flores de CS administrados disminuyeron y, en la mayoría de los casos, inhibieron totalmente la formación de lesiones ulcerosas (Tabla 1).

La mucosa gástrica de los animales tratados con extracto acuoso, presentaron un aspecto macroscópico normal, sin formación de úlceras (ver Figura 2).

El extracto metanólico previno la formación de úlceras en un 78%. En la Figura 3 puede observarse una congestión generalizada de la mucosa, interrumpida por manchas blanquecinas correspondientes a zonas donde ha comenzado el efecto erosivo que precede a la formación de lesiones gástricas.

Los extractos metanólico-clorofórmico (ver Figura 4) y clorofórmico (ver Figura 5) previnieron totalmente la formación de úlceras.

Figura 1: Porción glandular (Pg) de estómago de rata perteneciente al grupo testigo sometida a estrés por inmersión en agua.

Figura 2: Pg de estómago de rata tratado con extracto acuoso. La mucosa presenta un aspecto normal.

Figura 3: Pg de estómago de rata tratado con extracto metanólico. La flecha indica una zona blanquecina que posee en el centro una lesión ulcerosa. El aspecto congestionado de la mucosa y las zonas blanquecinas indican que el extracto no logra un completo efecto citoprotector.

Figura 4: Pg de estómago tratado con extracto metanólico-clorofórmico.

Figura 5: Pg de estómago tratado con extracto clorofórmico.

Estos dos últimos extractos previenen totalmente la formación de úlceras presentando la mucosa de los estómagos un aspecto normal.

→ Las flechas indican lesiones ulcerosas.

* A los estómagos fotografiados se les ha retirado la porción aglandular.

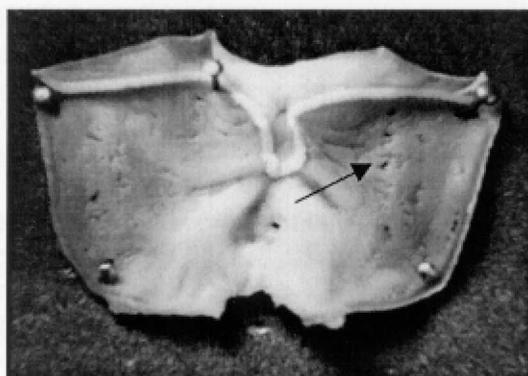


Figura 1

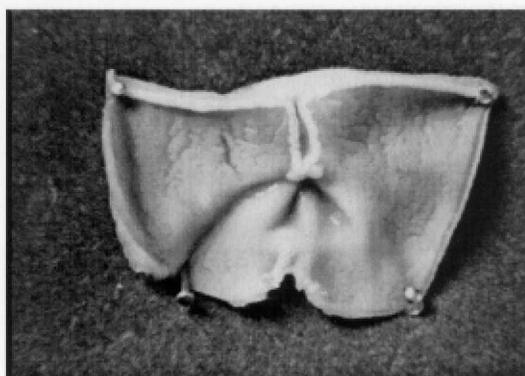


Figura 2

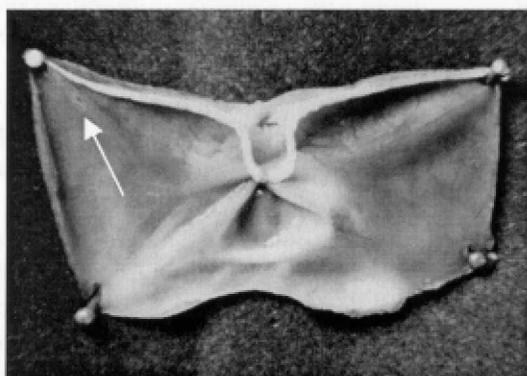


Figura 3

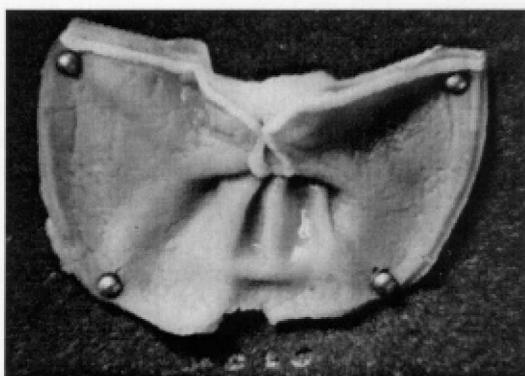


Figura 4



Figura 5

Tabla 1. Efecto citoprotector de extractos de *Centaurea solstitialis* sobre úlceras inducidas por estrés en ratas.

<i>Grupo</i>	<i>Número de úlceras</i>	<i>Prevención de úlceras (% respecto al control)</i>
<i>Control</i> ¹	37	0
<i>a</i> ²	0	100
<i>b</i> ³	8	78 *
<i>c</i> ⁴	0	100
<i>d</i> ⁵	0	100

Tratamiento: Los extractos fueron vehiculizados con una mezcla de T80 + CMC en partes iguales. El volumen administrado fue de 3 ml por animal. Ref.:¹ T80 + CMC, ²extracto acuoso, ³ extracto metanólico, ⁴ extracto metanólico-clorofórmico (1:1), ⁵ extracto clorofórmico.

* Test "t" de Student $p < 0.05$, $n = 5$.

En el grupo **a** el extracto acuoso previno en el 100 % de los casos la formación de úlceras. Con el extracto metanólico (**b**), se obtuvo una prevención del 78% ($p < 0,05$ respecto al grupo control), mientras que en el grupo **c**, tratado con una combinación de extractos metanólico-clorofórmico (1:1) y en el **d** con extracto clorofórmico, se inhibió totalmente la formación de lesiones ulcerosas.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El extracto acuoso de CS inhibe totalmente el daño producido por el estrés por inmersión sobre la mucosa gástrica, comprobándose el efecto sobre los estómagos de ratas.

1998)

Con la administración del extracto metanólico (grupo b) se logró un efecto protector menor que los obtenidos con los extractos utilizados en los grupos c y d.

Componentes aislados con cloroformo previnieron totalmente la formación de úlceras, al igual que la combinación cloroformo-metanol.

Los ensayos biológicos utilizados permiten afirmar que, si bien hay principios activos con efecto citoprotector presentes en ambos extractos, metanólico y clorofórmico, este último posee un efecto más eficaz.

Se concluye que la Cs que se desarrolla en la Argentina posee efectos citoprotectores sobre la mucosa gástrica. Estos resultados sugieren que los extractos metanólicos y clorofórmicos, que según el esquema de extracción utilizado contendrían flavonoides y sesquiterpeno lactonas respectivamente, serían los responsables de los efectos citoprotectores observados (Goel et al., 1996; Enriz et al.,

BIBLIOGRAFÍA

- ENRIZ, R.D.; RODRIGUEZ, A.M.; JAUREGUI, E.A.** - 1998 - Estudio de la relación estructura-actividad citoprotectora gástrica de lactonas sesquiterpénicas y compuestos estructuralmente relacionados. *Acta Farm. Bonaerense* 17: 41-52.
- GALLO, G.G.** - 1979 - Plantas tóxicas para el ganado en el cono sur de América. Ed. Universitaria de Buenos Aires (Argentina), pp. 147-149.
- GOEL, R.K.; MAITI, R.N.; TAVARES, Y.A.** - 1996 - Role of endogenous eicosanoids in the antiulcer effect of kaempferol. *Fitoterapia* LXVII: 548-552.
- HAMBURGER, M.; WOLFENDER, J.; HOSTETTMANN, K.** - 1993 - Search for chlorinated sesquiterpene lactones in the neurotoxic thistle *Centaurea solstitialis* by liquid chromatography-mass spectrometry, and model studies on their possible artifactual formation. *Natural Toxins* 1: 315-327.
- LAMBERTO, S.A.; VALLE, A.F.; ARAMAYO, E.M.; ANDRADA, A.C.** - 1997 - Manual ilustrado de las plantas silvestres de la región de Bahía Blanca. Departamento de Agronomía. Universidad Nacional del Sur. Ed. Diagrama, Bahía Blanca (Argentina), p. 239.
- MADDOX, D.M.; AUBREY, M.; PORITZ, N.H.** - 1985 - Distribution of Yellow Starthistle (*Centaurea solstitialis*) and Russian Knapweed (*Centaurea repens*). *Weed Sc.* 33: 315-327.
- TURNER, C.H.E.; ROUHOLLAH, S.; MADDOX, D.M.** - 1989 - Host-specificity studies of *Chaetorellia australis* (Diptera: Tephritidae), a prospective biological control agent for Yellow Starthistle, *Centaurea solstitialis* (Asteraceae). En: Proc. VII. Int. Symp. Biol. Contr. Weeds, Ed. E.S. Desfosse. Ist. Sper. Pat. Veg. (MAF), pp. 231-236.
- YESILADA, E.; SEZIK, E.; FUJITA, T.; TANAKA, S.; TABATA, M.** - 1993 - Screening of some Turkish medicinal plants for their antiulcerogenic activities. *Phytotherapy Res.* 7: 263-265.