

# Uniendo saberes para reducir los riesgos en la salud y el ambiente

## Composición fitoquímica y efecto *in vitro* de un extracto de *Nicotiana glauca* Graham (“palán palán”, Solanaceae) sobre la peroxidación lipídica no enzimática de mitocondrias de cerebro de rata.

Celadilla, Sofía<sup>1</sup>; Cerdán, Juan<sup>1</sup>; Di Cesare, Luca<sup>1</sup>; Leaden, Patricio<sup>1</sup>; Marmunti, Mónica<sup>1</sup>; Gavazza, Mariana<sup>1</sup>; Barberón, Javier<sup>1</sup>; Zeinsteger, Pedro<sup>1</sup><sup>1</sup>Cátedra Bioquímica, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. Buenos Aires, Argentina

### INTRODUCCIÓN

*Nicotiana glauca* (Ng, Fig. 1), nativa de Sudamérica, es tóxica para el ganado bovino debido a alcaloides piridínicos (anabasina, nicotina); es considerada medicinal por pueblos originarios, utilizándose como cataplasmas. Se caracteriza por la presencia de compuestos con capacidad antioxidante y antimicrobiana (flavonoides). El cerebro es vulnerable al estrés oxidativo debido a su metabolismo oxidativo, presenta altas cantidades de ácidos grasos poliinsaturados y bajos niveles de enzimas antioxidantes. Los objetivos de este estudio fueron realizar el análisis fitoquímico cualitativo y determinar el efecto *in vitro* sobre la peroxidación lipídica no enzimática en mitocondrias aisladas de cerebro de rata Wistar de un extracto de Ng.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó 1 g de hojas secas y molidas y para la extracción fitoquímica 50 ml de metanol:agua destilada (1:1) durante 12 h en agitador magnético. El extracto obtenido (Fig. 2) fue rotaevaporado a sequedad y el residuo resuspendido en 10 ml de metanol:agua destilada (1:1), obteniéndose una solución madre equivalente a 10 mg de hojas. El estudio fitoquímico incluyó test de Shinoda (flavonoides), Cl<sub>3</sub>Fe y gelatina (taninos y OH fenólicos), iodo (lípidos), fenol + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (glúcidos), Liebermann-Burchard (esteroides y triterpenos), Bornträger (antraquinonas), Dragendorff (alcaloides), Legal (cardenólidos) y Rosenheim (leucoantocianinas). Para cuantificar peroxidación lipídica se utilizó TBARS (especies reactivas al ácido tiobarbitúrico) analizado por fluorometría, incubando 1 mg de mitocondrias cerebrales con concentraciones crecientes del extracto (50, 100, 200, 300 y 600 µg/ml). Se establecieron los grupos: 1) control (solo mitocondrias), 2) ascorbato-Fe<sup>++</sup> [mitocondrias + inductor (solución de ascorbato 0,4 mM)] y 3) extracto en diferentes concentraciones (mitocondrias + inductor + extracto). Se utilizó *t* de Student y nivel 0,05 como punto de menor significación estadística.

### RESULTADOS

Las fitoquímica demostró la presencia de flavonoides (Fig. 3) y alcaloides (Fig. 4), entre otros (Fig. 5). En el ensayo TBA, al comparar controles y ascorbato-Fe<sup>++</sup> durante la incubación de mitocondrias, las membranas fueron sensibles a lipoperoxidación. El extracto demostró efecto antioxidante a 200, 300 y 600 µg/ml, observándose disminución significativa ( $p < 0,005$ ) de nmoles de malondialdehído (MDA)/mg de proteína (concentración dependiente), en comparación con el grupo ascorbato-Fe<sup>++</sup> (Fig. 6). El extracto de Ng actuó como antioxidante de membranas mitocondriales cerebrales frente a daño lipoperoxidativo. Esto podría deberse a los flavonoides y alcaloides presentes en Ng, lo que explicaría el uso folklórico de una planta tóxica, que no demuestra estos efectos cuando es utilizada por vía tópica.

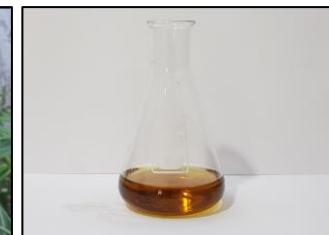
Figura 1. Flores de *Nicotiana glauca*, “palán palán” (Solanaceae).Figura 2. Aspecto del extracto hidroalcohólico de hojas secas de *Nicotiana glauca*.

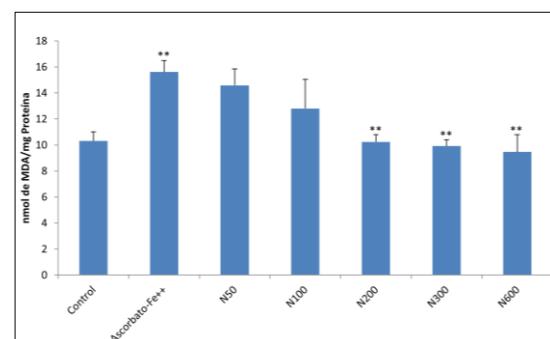
Figura 3. Test de Shinoda. El anillo de color rosa indica la presencia de flavonoides.



Figura 4. Test de Dragendorff. Naranja: positivo para alcaloides en extracto Ng. Amarillo: control.

Determinaciones	Fracción A	Fracción B	Fracción C
Shinoda	+		
Cloruro férrico	+		
Gelatina	+		
Iodo	+		
Fenol 5% + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , concentrado	+		
Liebermann-Burchard		+ esteroides - triterpenos	
Bornträger		-	
Dragendorff			+
Legal			-
Rosenheim			-

Figura 5. Reacciones y test cualitativos para la determinación de fitoquímicos presentes en las diferentes fracciones del extracto.

Figura 6. Determinación de productos de peroxidación lipídica (TBARS), mitocondrias de cerebro de rata. Las diferencias estadísticamente significativas se indican mediante \*\* $p < 0,005$  tanto entre el grupo control y el grupo tratado con ascorbato-Fe<sup>++</sup> como entre los grupos Ng y ascorbato-Fe<sup>++</sup>. (N+valor = Concentración de extracto de Ng).