

INSTITUTO DE GASTROENTEROLOGIA. CENTRO DE INVESTIGACION Y DESARROLLO
DE MEDICAMENTOS

EFFECTO ANTIULCEROSO DE UNA SOLUCION VISCOSA ORAL A PARTIR DE UN EXTRACTO DE *Bidens pilosa* L. (ROMERILLO) EN RATAS

Lic. Alicia Alvarez Avalos,¹ Ing. Yamilet Robaina,² Lic. Ester Sánchez,²
y Téc. Marina Cuevas Guerrero³

RESUMEN

Se estudió el efecto antiulceroso de una forma farmacéutica, constituida por el residuo acuoso de un extracto hidroalcohólico de *Bidens pilosa* L. en concentraciones de 40, 60 y 80 % en un vehículo viscoso. La actividad de la preparación se evaluó en tres modelos experimentales de lesiones gástricas en ratas inducidas por etanol, indometacina y estrés por inmovilización a baja temperatura. Se emplearon tres grupos de animales que recibieron la solución viscosa de *Bidens pilosa* por vía oral durante 5 días, en las tres concentraciones mencionadas, en dosis de 133,4; 212,1 y 282,8 mg de material vegetal/kg de peso, respectivamente. Un cuarto grupo se usó como control y recibió solamente el vehículo viscoso (placebo). Se obtuvo como resultado que la solución viscosa de *Bidens pilosa*, en las tres concentraciones estudiadas, disminuyó significativamente el número y la severidad de las lesiones de la mucosa gástrica inducidas por etanol y estrés, pero no hubo protección contra el daño inducido por indometacina. La solución viscosa que contenía extracto al 80 % fue la más efectiva.

Palabras clave: Plantas medicinales; Agentes antiulcerosos; Extractos vegetales; Heridas y lesiones; Mucosa gástrica; Ratas.

INTRODUCCION

Bidens pilosa L. (romerillo blanco) pertenece a la familia Compositae (Asteraceae), es originaria de América del Sur y se encuentra en todos los países de regiones tropicales y subtropicales. Crece en terrenos baldíos y campos cultivados, por lo que se le considera invasora de cultivos de interés económico. En Cuba es más abundante la variedad radiata, que se caracteriza por presentar flores radiadas de color blanco.

No obstante, el amplio uso de esta planta en la medicina tradicional, pocos estudios han sido reali-

zados con un rigor científico adecuado que comprueben las actividades farmacológicas que se le atribuyen y orienten su utilización con fines terapéuticos. La bibliografía revisada le confiere a diferentes extractos de *Bidens pilosa* L., y en particular a algunos de sus componentes químicos, actividades farmacológicas antimicrobiana o antibacteriana,¹⁻⁵ antihelmíntica y antiprotozoaria,⁶ antimicótica,^{1,7} colerética^{8,9} y antiinflamatoria.^{8,10}

En el Instituto de Gastroenterología de la Habana, se hicieron algunos trabajos previos, en los que se comprobó que *Bidens pilosa* L. var. radiata tenía un efecto protector de la mucosa gástrica

¹ Investigadora Auxiliar. Instituto de Gastroenterología.

² Investigadora Agregada. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos.

³ Técnica en Gastroenterología. Instituto de Gastroenterología.

frente al modelo de inducción de úlceras debidas al estrés por inmovilización y frío, cuando se administró a ratas, en forma de extractos acuosos y en dicloroetano de hojas y tallos, por separado.¹¹ En otro trabajo se comprobó que, tanto un extracto total como tres fracciones derivadas, produjeron una disminución significativa del índice de lesión de la mucosa gástrica dañada por el efecto de estrés.¹² En los dos estudios ninguna de las formas administradas produjo variaciones significativas en la secreción gástrica.

Los objetivos fueron analizar una forma farmacéutica constituida por una solución viscosa oral a partir del extracto de *Bidens pilosa* L. var. *radiata*, en diferentes concentraciones, con el fin de determinar si en esta forma se mantiene o se modifica la actividad antiulcerosa, y determinar cuál de las concentraciones es la que proporciona mejores resultados.

MATERIALES Y METODOS

Se usaron ratas Wistar machos, con un peso corporal entre 170 y 220 g; suministradas por el CENPALAB, que fueron incluidas al azar en los distintos grupos de tratamiento.

La solución viscosa de *Bidens pilosa* fue producida en el CIDEM. Para evaluar su actividad antiulcerosa empleamos tres modelos de inducción de lesiones gástricas experimentales: de estrés por inmovilización a baja temperatura,¹³ de etanol¹⁴ y de indometacina.¹⁵

Modelo de estrés. Se hicieron cinco grupos de 10 a 13 animales cada uno, a los que se les administró oralmente durante cinco días las siguientes sustancias:

	Dosis (mg/kg)
Grupo I. Vehículo viscoso sin extracto (placebo)	-
Grupo II. Solución viscosa con extracto al 40 %	133,4
Grupo III. Solución viscosa con extracto al 60 %	212,1
Grupo IV. Solución viscosa con extracto al 80 %	282,8
Grupo V. Agua común	-

Al cuarto día de tratamiento y posterior a 24 horas de ayuno en jaulas anticoprofágicas, los animales fueron inmovilizados sobre una tabla a la cual se ataron por las dos extremidades y la cabeza, estos fueron colocados en un refrigerador a temperatura de unos 8°C durante dos horas. Después de ese tiempo se devolvieron a las jaulas y se mantuvieron en ayuno con libre acceso al agua. Al siguiente día, después de la administración de las sustancias probadas, se repitió el mismo procedimiento y una vez concluido el período de estrés se sacrificaron por dislocación cervical y se extrajeron los estómagos

para el análisis macroscópico de las lesiones. Como índice de daño de la mucosa gástrica se tomaron el número y la severidad de las lesiones.¹⁶

Modelo de etanol. En este modelo se hicieron cinco grupos de 11 a 13 animales cada uno, los cuales fueron tratados de igual forma que en el modelo anterior. El quinto día, después de 24 horas de ayuno, los animales recibieron el producto correspondiente y una hora después se les administró por vía oral 1 mL de etanol absoluto. Se sacrificaron una hora después y se extrajeron los estómagos para su análisis.

Modelo de indometacina. Los animales se distribuyeron en cinco grupos de 9 a 10 ratas cada uno y se les administraron las sustancias probadas de forma similar a los modelos anteriores y durante el mismo período. El cuarto día los animales fueron puestos en ayuno y el quinto día, una hora después de haber recibido la sustancia correspondiente, se les administró por vía oral indometacina en dosis de 20 mg/kg en NaHCO₃ al 4 % a una concentración de 8 mg/mL, con un volumen de dosificación de 2,5 mL/kg. Las ratas se sacrificaron seis horas después por dislocación cervical y los estómagos fueron extraídos y analizados macroscópicamente.

En todas las series experimentales se calculó la media y el error estándar (x - EEM). En cada modelo los grupos de animales tratados con la solución viscosa a partir del extracto en distintas concentraciones fueron comparados con el grupo de animales que recibieron el placebo. El análisis estadístico de los datos se realizó mediante análisis de varianza y la prueba "t" de student, según el Programa Estadístico Microstat. Se consideraron diferencias significativas para una p > 0,05.

RESULTADOS

Según las observaciones realizadas en la mucosa gástrica, en el modelo experimental de estrés se encontró que en todos los animales tratados con la solución viscosa al 40, 60 y 80 % hubo una disminución del número de lesiones, esta disminución fue significativa en el grupo que recibió la solución al 40 % y muy significativa en el que recibió la solución al 80 % (68,85 % de inhibición de la formación de lesiones). La severidad de las lesiones disminuyó significativamente en todos los grupos tratados con la solución viscosa, esta disminución fue más manifiesta en el grupo tratado con la solución al 80 %, para la cual se obtuvo una inhibición en la severidad de las lesiones del 75,95 % (tabla 1).

En el modelo de etanol se observó que el pretratamiento con la solución viscosa al 40, 60 y 80 %

disminuyó significativamente el número y la severidad de las lesiones gástricas de manera dosis-dependiente (tabla 2).

En el modelo de indometacina observamos que el número y la severidad de las lesiones de los grupos tratados con la solución viscosa al 40, 60 y 80 % no difirieron significativamente de los del grupo que recibió el placebo, mas bien se observó un ligero incremento de estas dos variables (tabla 3).

En los tres modelos experimentales se observó que en el grupo que recibió agua común, el número y la severidad de las lesiones tuvieron valores mucho más altos que los observados en el grupo que recibió el placebo.

DISCUSION

Los resultados de este estudio muestran que la administración oral de una solución viscosa al 40, 60 y 80 % de *Bidens pilosa* L., en dosis de 133,4, 212,1 y 282,8 mg/kg respectivamente, produjo un efecto antiulceroso en las ratas de los modelos experimentales de estrés por inmovilización a baja temperatura y etanol.

Las úlceras producidas por estrés por inmovilización a baja temperatura son muy usados experimentalmente para la evaluación de la actividad antiulcerosa en ratas. Entre los mecanismos patogénicos responsables de las lesiones de la

Tabla 1. Efectos de las sustancias probadas sobre las lesiones gástricas producidas en ratas por el modelo experimental de estrés por inmovilización a baja temperatura

Tratamiento	N	Número de lesiones	% de inhibiciones	Severidad de lesiones	% de inhibiciones
Placebo	12	6,42 + 1,0	-	9,75 + 1,5	-
Solución viscosa al 40 %	12	3,67 + 1,0*	42,83	5,83 + 1,6*	40,20
Solución viscosa al 60 %	11	4,64 + 1,1	27,72	5,64 + 1,6*	42,15
Solución viscosa al 80 %	13	2,00 + 0,6***	68,85	2,38 + 0,8***	75,59
Agua común	10	13,10 + 2,2 ^a	-	17,20 + 2,4 ^a	-

N = Número de animales.

* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ (disminución en relación con el placebo). ^a $p < 0,01$ (incremento en relación con el placebo).

Tabla 2. Efectos de las sustancias probadas sobre las lesiones gástricas producidas en ratas por el modelo experimental de etanol

Tratamiento	N	Número de lesiones	% de inhibiciones	Severidad de lesiones	% de inhibiciones
Placebo	11	11,09 + 2,9	-	22,18 + 7,0	-
Solución viscosa al 40 %	12	4,75 + 2,0*	57,17	7,42 + 3,1*	66,55
Solución viscosa al 60 %	11	2,54 + 0,6**	77,10	3,18 + 0,6**	85,66
Solución viscosa al 80 %	11	0,54 + 0,2***	95,13	0,82 + 0,3***	96,30
Agua común	13	17,23 + 2,7	-	32,54 + 4,8	-

N = Número de animales.

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ (disminución en relación con el placebo).

Tabla 3. Efectos de las sustancias probadas sobre las lesiones gástricas producidas en ratas por el modelo experimental de indometacina

Tratamiento	N	Número de lesiones	% de inhibiciones	Severidad de lesiones	% de inhibiciones
Placebo	10	7,60 + 1,7	-	9,10 + 1,9	-
Solución viscosa al 40 %	9	9,89 + 1,7	30,13	11,55 + 2,5	26,92
Solución viscosa al 60 %	9	10,22 + 2,1	34,47	12,55 + 2,8	37,91
Solución viscosa al 80 %	9	11,78 + 2,3	55,00	12,44 + 2,5	36,70
Agua común	9	20,33 + 2,3 ^a	-	26,33 + 2,4 ^a	-

N = Número de animales.

^a $p < 0,001$ (incremento en relación con el placebo).

mucosa gástrica inducidas por estrés se invocan disturbios de la microcirculación mucosal,¹⁷ incremento en la secreción ácida y en la motilidad gastrointestinal,^{18,19} así como la depleción de *mucus*.²⁰

Aunque en este trabajo no se evaluó la actividad antisecretora de la solución viscosa de *B. pilosa*, tenemos datos de otros trabajos realizados en nuestro laboratorio^{11,12} en los que la administración de extractos de esta planta no produjo cambios significativos en la secreción ácida gástrica. En uno de estos trabajos¹² también se encontró que el estudio histoquímico de la mucosa gástrica de ratas pretratadas con un extracto total de *B. pilosa* en el modelo estrés, reveló que la cantidad de mucinas neutras que recubre la mucosa fue marcadamente superior a la encontrada en ratas sometidas a estrés y aproximadamente similar a la encontrada en ratas normales.

Estos hallazgos nos hacen suponer que el efecto antiulceroso de la solución viscosa de *B. pilosa* en el modelo de inmovilización a baja temperatura, no está relacionado con una disminución de la secreción ácida gástrica, pero probablemente en este efecto esté implicado un incremento en la secreción de *mucus*.

La formación de lesiones de la mucosa gástrica inducidas por etanol es también de etiopatogenia multifactorial. El daño de la mucosa inducido por etanol produce áreas de hiperemia focal y hemorragia en las zonas dañadas del estómago, lo cual sugiere un papel fundamental en las alteraciones del flujo sanguíneo mucosal, que contribuyen al estasis sanguíneo, incremento de la permeabilidad vascular y necrosis del tejido.^{21,22} Los productos de la vía 5-lipooxigenasa, fundamentalmente leucotrienos, así como moduladores de la función vascular tales como el factor de activación plaquetaria (PAF), también pueden desempeñar una función importante en el desarrollo de estas lesiones.^{23,24} En este estudio, la solución viscosa de *B. pilosa* al 40, 60 y 80 % protegió significativamente y de manera dosis-dependiente a la mucosa gástrica contra el daño inducido por etanol.

La administración de indometacina por diferentes vías y dosis, conduce a la formación de lesiones agudas de la mucosa gástrica y del intestino delgado.^{25,26} Esta acción se le atribuye, principalmente, a su efecto inhibitorio sobre la ciclooxigenasa, enzima responsable de la producción de prostaglandinas y, consecuentemente, a una sobreproducción de leucotrienos y otros productos de la actividad 5-lipooxigenasa ocasionan daño de la mucosa gastrointestinal.²⁷ En este estudio, el pretratamiento con la solución viscosa de *B. pilosa* al

40, 60 y 80 % no protegió la mucosa gástrica contra las lesiones inducidas por indometacina.

En otros estudios realizados en nuestro laboratorio encontramos que extractos de *B. pilosa* tampoco protegieron la mucosa gástrica de ratas contra las lesiones inducidas por indometacina. También encontramos que la administración de uno de esos extractos, en dosis de 309,7 mg/kg durante cinco días, no influyó en la generación de PGE₂ en la mucosa gástrica de ratas normales (datos no publicados). Estos hallazgos sugieren la exclusión de un mecanismo mediado por prostaglandina para la actividad protectora de la mucosa gástrica mostrada por la solución viscosa de *B. pilosa*.

En los animales que recibieron el placebo, el número y la severidad de las lesiones fue menor que en las que recibieron agua común, esta diferencia fue significativa ($p < 0,001$) en los modelos de estrés e indometacina. Esto puede explicarse por la composición y las características físicas del placebo. Entre los componentes del vehículo viscoso está la sacarosa en el 20 %, y se ha comprobado que en el desarrollo de lesiones gástricas por CIH 0,6N en ratas, el número y la severidad de las lesiones fueron significativamente mayores en los animales ayunados 24 ó 48 horas, que en los alimentados con glucosa al 20 % durante igual período.²⁸ Por otro lado, la consistencia viscosa de la solución podría facilitar que esta se adhiera y permanezca por más tiempo en contacto con la mucosa, lo que también podría ser un factor contribuyente a la relativa protección de la mucosa observada en los grupos que recibieron el placebo.

CONCLUSIONES

1. La solución viscosa oral a partir de extracto de *Bidens pilosa* L. var. *radiata*, en concentraciones de 40, 60 y 80 %, mostró actividad antiulcerosa en los modelos experimentales de estrés y etanol.
2. La solución viscosa oral de *Bidens pilosa* L. al 80 % fue la que mostró mejores resultados al producir mayor disminución del número y la severidad de las lesiones gástricas en los dos modelos.
3. El efecto antiulceroso de la solución viscosa de *Bidens pilosa* L. parece no estar relacionado con una disminución de la secreción ácida gástrica ni con un mecanismo mediado por prostaglandina pero probablemente en este efecto esté implicado un incremento de la secreción de *mucus*.
4. Se recomienda que esta modalidad farmacéutica sea indicada en ensayo clínico.

SUMMARY

Antiulcerous effect of a pharmaceutical form, consisting of aqueous residue of an hydroalcoholic extract, from *Bidens pilosa* L., at concentrations of 40, 60, and 80 % in a viscous vehicle, was studied. Activity of preparation was assessed in three experimental models of gastric lesions in rats, induced by ethanol, indomethacin, and stress by immobilization at low temperature. Authors used three groups of animals receiving viscous solution from *Bidens pilosa* per os over 5 days, in three concentrations above mentioned, at doses of 133,4; 212,1; and 282,2 mg of plant material/kg of body weight, respectively. As control, a fourth group was used, receiving only viscous vehicle (placebo). As result, viscous solution of *Bidens pilosa*, in the three concentrations studied significantly decreased number and severity of injuries from gastric mucosa, induced by ethanol and stress, but there was not any protection against damage induced by indomethacin. Viscous solution containing 80 % extract, was the most effective.

Key words: Plants, medicinal; Anti-ulcer agents; Plant extracts; Wounds and injuries; Gastric mucosa; Rats.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. *Wat CK, Johns T, Towers GHN.* Phototoxic and antibiotic activities of plants of the Asteraceae used in folk medicine. *J Ethnopharmacol* 1980;2:279-90.
2. *Bondarenko AS, Petrenko GT, Aizenman BE, Evseenko OV.* Antimicrobial properties of phenylheptatryine a polyacetilene antibiotic. *Mikrobiol Zh* 1985;47(2):81-3.
3. *Wong-Leung YL.* Antibacterial activities of some Hong Kong plants used in chinese medicine. *Fitoterapia* 1988;59(1):11-6.
4. *Machado JO, Dos Santos E, Lefebre AFV.* Atividade antibacteriana de extratos de *Bidens pilosa* L. *Rev Cienc Farm* 1988;55-62.
5. *Sarg TM, Ateya AM, Farrag NM, Abbas FA.* Constituents and biological activity of *Bidens pilosa* L. grown in Egypt. *Acta Pharm Hung* 1991;61(6):317-23.
6. *N'Dounga M.* Identification and antiparasitic activity of 1-phenyl-1,3,5,-heptatryine. *Plant Med Phytother* 1983;17(2):64-75.
7. *Salomao R, Purchio A.* Activity of extract of plants in the inhibition of growth and aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus*. *Rev Microbiol* 1982;13(4):394-401.
8. *Isakova TI.* Search for choleric agents in Bur Marigold plants. *Farmatsiya* 1980;5:31-5.
9. *Yomura MH, Cury PR, Jesus MAL, Coelho CAR.* Efeitos da suspensao aquosa de folhas seca do Picao (*Bidens pilosa* L) sobre o fluxo biliar em ratos. *Arq Bras Med* 1988;62(4):281-2.
10. *Alcaraz MJ, Jiménez MJ.* Flavonoids as antiinflammatory agents. *Fototerapia* 1988;59(1):25-38.
11. *Alvarez A, Quintero M, Cuevas M.* Influencia de extractos de *Bidens pilosa* (Romerillo) a partir de hojas y tallo en la ulcerogénesis experimental en ratas. *Rev Cubana Farm* 1984;18:143-50.
12. *Alvarez A, Quintero M, Larionova M, Manzini ME, 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.
13. *Senay EC, Levine RJ.* Synergism between cold and restraint for the rapid production of stress ulcer in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 1967;124:1221-3.
14. *Robert A, Nezamis J, Lancaster C, Hanchar A.* Cytoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl and thermal injury. *Gastroenterology* 1979;77:433-43.
15. *Lee YH, Mollison KW, Cheng WD.* The effects of antiulcer agents on indomethacin-induced gastric ulceration in the rat. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1971;191:370-7.
16. *Mózsik Gy, Fiegler M, Nagy L, Patty I, Tárnok F.* Gastric and small intestinal energy metabolism in mucosal damage. En: Mózsik Gy, Hanninen O, Javor T eds. *Advances in physiological sciences: gastrointestinal defense mechanisms.* Oxford:Pergamon, 1981; Vol 29:213-75.
17. *Guth PH.* Gastric blood flow in restraint stress. *Digestive Diseases* 1972;17:807-13.
18. *Glavin GB, Kiernan K, Hnatowich M, Labella F.* Effect of morphine and naloxone on stress ulcer formation and gastric acid secretion. *Eur J Pharmacol* 1986;124:121-27.
19. *Goa KL, Monk JP.* Emprostil: A preliminary review of its pharmacodynamics and pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy in the treatment of peptic ulcer disease. *Drug* 1987;3:539-59.
20. *Koo MWL, Ogle CW, Cho CH.* Effect of verapamil, carbenoxolone and N-acetyl-cysteine on gastric wall mucus and ulceration in stressed rats. *Pharmacology* 1986;32:326-34.
21. *Szabo S, Trier J, Brown A, Schnoor J.* Early vascular injury and increased vascular permeability in gastric mucosal injury caused by ethanol in rats. *Gastroenterology* 1985;88:228-36.
22. *Guth PH, Paulsen G, Nagata H.* Histological and microcirculatory changes in alcohol-induced gastric lesions in the rat. Effect of prostaglandin cytoprotection. *Gastroenterology* 1984;87:1083-90.
23. *Oates PJ, Hakkinen JP.* Studies on the mechanisms of ethanol-induced gastric damage in rats. *Gastroenterology* 1988;94:10-21.
24. *Wallace J, Whittle BJR.* Picomole doses of platelet-activating factor predispose the gastric mucosa to damage by topical irritants. *Prostaglandins* 1986;31:989-98.
25. *Whittle BJR.* Temporal relationship between cyclooxygenase inhibition as measured by prostacyclin biosynthesis, and the gastrointestinal damaged induced by indomethacin in the rat. *Gastroenterology* 1980;80(1):94-8.
26. *Evangelista S, Maggi CA, Meli A.* Involvement of capsaicin-sensitive mechanism(s) in the antiulcer defense of intestinal mucosa in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 1987;184:264-6.
27. *Rainsford KD.* The effect of 5-lipoxygenase inhibitors and leukotriene antagonists on the development of gastric lesions induced by nonsteroidal antiinflammatory drugs in mice. *Agents and Actions* 1987;21(3/4):316-9.
28. *Morón F.* Gastric cytoprotection. Experimental and clinic studies. Tesis para optar por el grado de Candidato a Doctor en Ciencias Médicas. Pécs, Hungría, 1983.

Lic. Alicia Alvarez Avalos. Instituto de Gastroenterología. Calle 25 No. 503 entre H e I, Vedado, Ciudad de La Habana, Cuba.