

Juliprosina y juliprosopina, principales responsables de toxicidad de *Neltuma flexuosa*

Cabrera-Benitez A.M.^{1*}, Alucin A.K.¹, Bustillo S.², Torres A.M.², Cholich L.A.¹

¹*Cátedra de Farmacología y Toxicología, Facultad de Ciencias Veterinarias-UNNE.*

²*IQUIBA-CONICET.*

*angycabrerab@gmail.com

Resumen:

El género *Neltuma flexuosa* (*Prosopis flexuosa*), vulgarmente conocido como “Algarrobo”, es un árbol que se halla en distintas regiones del mundo. Las vainas de *Neltuma* están entre los alimentos más antiguos utilizados para la alimentación de los animales debido a su alto valor nutricional. En Brasil y Argentina se han reportado casos de intoxicaciones en animales con signos neurológicos tras un consumo prolongado de las vainas de *N. juliflora* y *N. flexuosa*. Los principales alcaloides identificados son juliprosina (JPS) y juliprosopina (JPSP), ambos piperidínicos. A partir de estudios *in vitro* se observó variación de la citotoxicidad entre poblaciones de *N. flexuosa* recolectadas en tres años diferentes. Hasta el momento no se confirmó la responsabilidad de los alcaloides piperidínicos de *N. flexuosa* en la toxicidad *in vivo* e *in vitro*. El objetivo de este trabajo fue evaluar la citotoxicidad de cada fracción del extracto de *N. flexuosa* y el posterior análisis de alcaloides. Para ello se empleó el extracto total con mayor contenido de JPS y JPSP, el cual fue fraccionado por columna flash, obteniendo cinco fracciones ya descriptas. Para los ensayos de citotoxicidad se empleó la línea celular derivada de glioma C6 (ATCC:CCL-107TM). Estas fueron sembradas en placas de 96 pocillos, a una concentración por well de 3.0×10^4 células en medio de crecimiento (DMEM-SFB 10%). Al alcanzar la monocapa una confluencia del 80%, se retiró el medio de cultivo y diferentes concentraciones de cada fracción (F: I, II, III, IV y V) ($2.5\text{-}10 \mu\text{g mL}^{-1}$) fueron adicionadas a las células ($200 \mu\text{L/pocillo}$) para luego incubarse por 48h a 37°C y 5% de CO_2 . La viabilidad fue determinada mediante el ensayo del colorante cristal violeta. Posteriormente, la F más citotóxica fue analizada mediante HPLC-HRMS para la identificación y cuantificación de los alcaloides. Luego de 48 h de exposición, la FIV evidenció un efecto citotóxico dosis dependiente, siendo estadísticamente significativa con respecto al control y a las demás fracciones ($p \leq 0,05$). Las células no tratadas y tratadas con las F: I, II, III y V se encontraban homogéneamente distribuidas en el cultivo y presentaban una forma delgada y alargada. En cuanto a las células expuestas a la FIV, tras la incubación con las concentraciones ensayadas se registraron diversos cambios morfológicos, que incluían el redondeo de las células y pequeñas vacuolas citoplasmáticas. También, se observaron áreas desprovistas de células, siendo aún más evidente a $10 \mu\text{g mL}^{-1}$. A partir del análisis de la FIV por HPLC-HRMS se identificaron la JPS y JPSP con concentraciones de $5,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ y $14,1 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. Estos resultados confirman que la toxicidad de *N. flexuosa* está dada por estos alcaloides piperidínicos. Sin embargo, son necesarios futuros estudios para determinar cuál de ellos es el principal responsable de la toxicidad.

Palabras clave: Alcaloides piperidínicos, citotoxicidad