

Evaluación del efecto antiinflamatorio de un extracto orgánico de *Allophylus cominia* (L) Sw. sobre la actividad de COX-2 y FLA-2s

[Evaluation of the antiinflammatory effect of an organic extract of *Allophylus cominia* (L) Sw. on COX-2 and sPLA-2 activity]

Yuleivys OLIVA-HERNÁNDEZ¹, Janet SÁNCHEZ-CALERO², María José ABAD-MARTÍNEZ²,
Paulina BERMEJO-BENITO² & Evangelina MARRERO-FAZ¹

¹Grupo de Química-Farmacología/Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), San José de las Lajas, Cuba

²Departamento de Farmacología/Facultad de Farmacia/Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España

Contactos | Contacts: Evangelina MARRERO-FAZ - E-mail address: eva.marrero@infomed.sld.cu

Abstract

Allophylus cominia (L) Sw (Sapindaceae), is one of the most popular Cuban medicinal plant. The aimed of this study was to explore, if the antidiabetic organic extract has also anti-inflammatory effect, considering that inflammation is correlationated with diabetes. It was evaluated in vitro inhibitory activity of chloroform extract of leaves on cyclooxygenase-2 (COX-2) and secreted phospholipase A2 (sPLA-2), which are important cellular mediators in the signaling cascade of the inflammatory process. The extract studied shown inhibitory activity on COX-2, while not shown on FLA-2s. This study provides direct evidence of the activity of *A. cominia* on mechanisms related to anti-inflammatory effects involving the eicosanoid cascade.

Keywords: *Allophylus cominia* (L) Sw, antiinflammatory activity; COX-2 inhibitory activity, sPLA2 inhibitory activity.

Resumen

Allophylus cominia (L) Sw (Sapindáceas) es una de las plantas medicinales más afamadas de la medicina tradicional en Cuba. El objetivo de este estudio fue explorar si el extracto orgánico con actividad antidiabética tenía también efecto de tipo antiinflamatorio, considerando que la inflamación es un evento relacionado con la diabetes. En tal sentido se evaluó *in vitro* la actividad inhibitoria del extracto clorofórmico de las hojas de *Allophylus cominia* (L) Sw sobre ciclooxigenasa-2 (COX-2) y fosofolipasa A2 secretada (FLA-2s), las cuales constituyen importantes mediadores celulares en la cascada de señalización del proceso inflamatorio. El extracto estudiado exhibió actividad inhibitoria sobre COX-2, mientras que no la mostró sobre FLA-2s. Este trabajo brinda evidencias directas de la actividad de *A. cominia* sobre mecanismos vinculados al efecto antiinflamatorio que involucran la cascada de eicosanoides.

Palabras Clave: *Allophylus cominia* (L) Sw, actividad antiinflamatoria; actividad inhibitoria, COX-2, FLA-2s

Recibido | Received: 27 de Marzo de 2012.

Aceptado en versión corregida | Accepted in revised form: 19 de Julio de 2012.

Publicado en línea | Published online: 30 de Marzo de 2013.

Este artículo puede ser citado como / This article must be cited as: Y Oliva-Hernández, J Sanchez-Calero, MJ Abad-Martínez, P Bermejo-Benito, E Marrero-Faz. 2013. Evaluación del efecto antiinflamatorio de un extracto orgánico de *Allophylus Cominia* (L) Sw. sobre la actividad de COX-2 y FLA-2s. **Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat** 12(2): 150 – 153.

Lista de abreviaciones:

COX-2 – ciclooxigenasa-2; FLA-2s – fosfolipasa A-2 secretada

INTRODUCCIÓN

Aunque no existen datos precisos para evaluar la extensión del uso global de plantas medicinales, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado que más del 80% de la población mundial utiliza, rutinariamente, la medicina tradicional para satisfacer sus necesidades de atención primaria de salud y que gran parte de los tratamientos tradicionales implica el uso de extractos de plantas o sus principios activos (OMS, 2008).

Allophylus cominia (L) Sw (Sapindáceas), también conocida como *Rhus cominia* L o *Schmidelia cominia* Sw y cuyo nombre común es palo de caja, caja o caja común, es una de las plantas medicinales más afamadas en Cuba. Antiguamente se usaba solo como remedio casero en baños y cocimientos contra los pujos y otros trastornos gastrointestinales, pero desde hace años adquirió gran estimación como remedio contra la diabetes. Asimismo, se ha informado su uso en la hemoptisis, tuberculosis y enfermedades catarrales, en general. También se le atribuyen propiedades medicinales contra los dolores de muela y como depurativo de la sangre en las enfermedades venéreas (Roig, 1988).

Varias investigaciones contribuyen a sustentar científicamente las propiedades antidiabéticas de esta planta, siendo evaluados extractos acuoso y clorofórmico (Melchor *et al.*, 1999; Valls, 2000; Valls *et al.*, 2000; Véliz, 2001; Véliz *et al.*, 2003; Véliz *et al.*, 2004).

Los estudios fitoquímicos del extracto acuoso de hojas, tallo y corteza revelaron la presencia de taninos, aminos libres, fenoles, triterpenos y esteroides. Se han identificado, además, proteínas y carbohidratos como arabinosa, xilosa, galactosa, glucosa, entre otros compuestos (Véliz *et al.*, 2005).

Por su parte, el extracto clorofórmico farmacológicamente activo contiene ácidos grasos, esteroides, triterpenos, proteínas, clorofilas y un compuesto mayoritario de color amarillo de naturaleza no polar (Valls, 2000).

Existen evidencias de la existencia de una relación correlativa y causal entre la inflamación y la diabetes (Duncan *et al.*, 2003; Basu *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2009)

Es conocido que las prostaglandinas desempeñan un papel importante como mediadores de la inflamación. Su formación comienza cuando el ácido araquidónico es liberado de los fosfolípidos de las membranas celulares por la acción de la fosfolipasa A2 (FLA-2s). El ácido araquidónico es metabolizado posteriormente por la ciclooxigenasa (COX) para generar las prostaglandinas.

La ciclooxigenasa presenta dos isoformas: COX-1, que regula la síntesis de prostaglandinas constitutivas, como la prostaciclina y COX-2, inducida por numerosos agentes pro-inflamatorios y vasoactivos, controla la rápida y elevada síntesis de prostanoïdes en procesos activos como inflamación, destrucción celular, parto, apoptosis, etcétera.

De ahí que, resultaba interesante explorar, si el extracto clorofórmico que previamente mostró poseer un efecto antidiabético importante en un modelo de diabetes inducida *in vivo* en ratas adultas STZ, tenía también efecto de tipo antiinflamatorio.

MATERIALES Y MÉTODOS**Material vegetal**

Las hojas frescas de *Allophylus cominia* (L) Sw. (familia: Sapindáceas) fueron colectadas en el mes de febrero de 2010, a las 6:00 a.m. La recogida se realizó en la zona de San José de las Lajas, provincia Habana. Posteriormente se trasladaron hacia el Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), donde se les eliminaron las materias contaminantes.

Una muestra de la planta fue enviada al Jardín Botánico Nacional donde se reconoció la autenticidad de la especie. Como constancia, fue depositada en el herbario central de dicho instituto y se certificó de la siguiente forma: Dr. Jorge Gutiérrez. Código: Toledo 77922 (HAJB)

Preparación del extracto clorofórmico

Las hojas se secaron a 40 °C en una estufa (Hotpack, Canadá) durante 8 horas y posteriormente se mantuvieron 72 h en una cámara de incubación a 37 °C con lo que se aseguraba su secado total. El material seco fue molinado en un molino de cuchillas (CULATTI, DHF 48), obteniéndose un tamaño de partícula de 5 mm. Posteriormente se almacenó en bolsas de polietileno en un lugar fresco con una temperatura promedio de 25 °C y humedad relativa de 50%.

Se maceraron 100 g de material vegetal seco con coloroformo, en proporción de 1:7 a 1:10 (p/v) de

18 a 24 h. Posteriormente se reflujo de 2 - 4 h y se filtró con papel de filtro Whatman 1. El extracto obtenido fue contenido de 1.09 g/mL de sólidos totales.

Ensayos de actividad inhibitoria de FLA-2s y COX-2

La actividad de inhibitoria de FLA-2s se realizó por el método radiométrico descrito por Payá *et al.*, 1996,

empleando membranas de *Escherichia coli* marcadas con ácido oleico- ^3H ; mientras que la actividad inhibitoria de COX-2 se basó en la determinación de los niveles de PGE2 en macrófagos peritoneales de ratón estimulados con LPS mediante Kit de ELISA (Cayman Chemical), según Abad *et al.*, 2001.

Tabla 1
Actividad inhibitoria de COX-2 y FLPA-2s del extracto clorofórmico de hojas de *Allophylus cominia* (L) Sw.^a

Tratamiento	Inhibición COX-2 (%) (100µg/ml)	Inhibición FLA-2s IC ₅₀ (mg/ml)
Extracto clorofórmico <i>A. cominia</i>	80	--

^aLos valores son la media de tres replicas; --, no inhibición.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Acorde a los resultados obtenidos se observó, a la dosis empleada, un efecto inhibitorio que podemos catalogar de importante sobre COX-2 por parte del extracto clorofórmico de *A. cominia* evaluado, todo lo cual muestra un efecto antiinflamatorio a nivel de la cascada de eicosanoides mediado por la inhibición de la síntesis de prostaglandinas. A su vez vincula este efecto farmacológico con el anteriormente evaluado de tipo antidiabético (Valls, 2000; Valls *et al.*, 2000) y resulta un aspecto interesante a considerar en futuros trabajos. Por otra parte, la no inhibición de la actividad de la enzima FLA-2s denota que la respuesta antiinflamatoria no está afectada a nivel del ácido araquidónico.

Se ha descrito ampliamente el efecto antiinflamatorio tanto de extractos como de metabolitos secundarios de fuentes naturales, entre ellos ácidos grasos, triterpenos y esteroides de los cuales son constitutivos del extracto objeto de estudio (Vallejo *et al.*, 2011).

Se concluye que el extracto orgánico evaluado posee un efecto farmacológico de tipo antiinflamatorio mediado por COX-2 el que resulta prometedor y que futuros estudios se requerirán realizar para profundizar en cuanto a la relación concentración/efecto y en los análisis fitoquímicos estructurales, todo lo cual contribuirá a una mejor comprensión del efecto inicialmente descrito.

CONCLUSIONES

Este trabajo brinda por primera vez evidencias directas de la actividad de *Allophylus cominia* (L) Sw. sobre mecanismos vinculados al efecto antiinflamatorio que involucran la cascada de eicosanoides.

AGRADECIMIENTOS

Al colectivo que colaboró del Proyecto PIBARTRI - CYTED de la Univ. Complutense de Madrid y Univ. de Valencia, España.

REFERENCIAS

- Abad MJ, De las Heras B, Silvan AM, Pascual R, Bermejo P, Rodríguez AM, Villar AJ. 2001. Effects of furocoumarins from *Cachrys trifida* on some macrophage functions. **Pharm Pharmacol** 53: 1163 - 1168.
- Basu S, Larsson A, Vessby J, Vessby B, Berne C. 2005. Type 1 Diabetes is associated with increased cyclooxygenase-and cytokine-mediated inflammation. **Diabetes Care** 28: 1371 - 1375.
- Duncan BB, Schmidt MI, Pankow JS, Ballantyne CM, Couper D, Vigo A, Hoogeveen R, Folsom AR, Heiss G. 2003. Low-grade systemic inflammation and the development of type 2 diabetes. The atherosclerosis risk in communities study. **Diabetes** 52: 1799 - 1805.

- Liu TT, Shih KC, Kao CC, Cheng WT, Hsieh PS. 2009. Importance of cyclooxygenase 2-mediated low-grade inflammation in the development of fructose-induced insulin resistance in rats. **Chin J Physiol** 52: 65 - 71.
- Melchor G, García L, Marrero E and Lorenzo L. 1999. Actividad Hipoglicemiantes Oral de *Allophylus cominia* L. Sw (palo de caja) en ratas normoglicémicas. **Rev Salud Anim** 21: 35.
- OMS, 2008. (Organización Mundial de la Salud) **Medicina tradicional**. Nota descriptiva 134, Ginebra, Suiza.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/es/index.html> [Consultado 16 de Diciembre de 2012].
- Payá M, Terencio MC, Ferrándiz ML, Alcaraz MJ. 1996. Involvement of secretory phospholipase A2 activity in the zymosan rat air pouch model of inflammation. **Br J Pharmacol** 117: 1773 - 1779.
- Roig JT. 1988. **Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba**. Ed. Ciencia Técnica, Habana, Cuba.
- Vallejos-Villalobos JR, Peral-Pacheco D, Vazquez-Pardo FM, Carrasco-Ramos MC. 2007. Revisión de un grupo de familias botánicas con interés medicinal para Extremadura: Amaryllidaceae, Aristolochiaceae, Bromeliaceae, Miristicaceae y Salicaceae. **Revista de Estudios Extremeños** 63: 257 - 273.
- Valls J. 2000. **Obtención, caracterización química y evaluación farmacológica de un extracto de *Allophylus cominia* (L.) Sw., para su utilización como medicamento hipoglicemiante**. Tesis para optar por el grado de Master en Tecnología y Control de medicamentos. IFAL. Universidad de La Habana, La Habana, Cuba.
- Valls J, Véliz T, Marrero E, Lagunas A. 2000. Evaluación farmacológica de diferentes extractos obtenidos a partir de la especie vegetal *Allophylus cominia* (L.) Sw. **Rev Cub Farm** 34: 82 - 83.
- Véliz T. 2001. **Efecto del extracto acuoso de *Allophylus cominia* (L.) Sw. en modelos roedores *in vivo* y *ex vivo***. Tesis para optar por el grado de Master en Farmacología. IFAL. Universidad de La Habana, La Habana, Cuba.
- Véliz T, Marrero E, Fernández O. 2003. Determination of the peripheral glucose consumption in the presence of an *Allophylus cominia* (L) Sw extract. **Av Diabetol** 19: 178 - 179.
- Véliz T, Valls J, Marrero E, Fernández O. 2004. Análisis fitoquímico y farmacológico de extractos de *Allophylus cominia* (L.) Sw. **Rev CENIC Cs Biol** 35: 71 - 76.
- Véliz T, Valls J, Sanchez LM, Noa M and Marrero E. 2005. Detection and determination of chemical groups in an extract of *Allophylus cominia* (L.). **J Herb Pharmacother** 5: 31 - 38.