

González-García, Kethia; Vélez Castro, Hermán; Nuevas Paz, Lauro; Márquez Montiel, Lucía; Garrido-Garrido, Gabino; González-Lavaut, José Antonio
Aislamiento y efecto antiinflamatorio de un alcaloide de *Zanthoxylum elephantiasis* Macf (Rutaceae) introducida en Cuba
Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, Vol. 7, Núm. 5, septiembre, 2008, pp. 264-267
Sociedad Latinoamericana de Fitoquímica
Santiago, Chile

Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=85670505>



Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas
ISSN (Versión impresa): 0717-7917
blacpma_editorial@hotmail.com
Sociedad Latinoamericana de Fitoquímica
Chile

Aislamiento y efecto antiinflamatorio de un alcaloide de *Zanthoxylum elephantiasis* Macf (Rutaceae) introducida en Cuba.

[Isolation and anti-inflammatory effect of an alkaloid from *Zanthoxylum elephantiasis* Macf (Rutaceae) introduced in Cuba]

Kethia GONZÁLEZ-GARCÍA*, Hermán VÉLEZ-CASTRO, Lauro NUEVAS PAZ, Lucía MÁRQUEZ MONTIEL, Gabino GARRIDO-GARRIDO, José Antonio GONZÁLEZ-LAVAUT.

1. Centro de Química Farmacéutica (CQF), Departamento de Química, Laboratorio de Productos Naturales, Calle 200 y Ave. 21, Atabey, Playa, Ciudad de la Habana, Cuba.

*Contacto: kethia.glez@cqf.sld.cu; Tel (537) 2715013 / 2717822; Fax Contacto: (537) 273-6471

Received | Recibido 29/05/09; Aceptado | Accepted: 21/07/2008; Publicado | Published 30/09/2008

Resumen

El alcaloide canthin-6-ona fue aislado de *Zanthoxylum elephantiasis* Macf por Cromatografía Líquida a Vacío e identificado mediante experimentos de RMN. A este compuesto se le determinó su efecto anti-inflamatorio usando el modelo de edema en la pata inducido por carragenina. El alcaloide fue administrado intraperitonealmente a dosis de 0,3; 3 y 30 mg/kg. La inhibición de la formación del edema fue independiente de la dosis en la primera hora y dependiente de la dosis a las 3 y 5 horas después de la administración de la carragenina. Este trabajo muestra por primera vez el efecto antiinflamatorio de canthin-6-ona.

Palabras clave: *Zanthoxylum elephantiasis* Macf, RMN, alkaloids, canthin-6-ona, anti-inflamatorio.

Abstract

The alkaloid canthin-6-one was isolated from *Zanthoxylum elephantiasis* Macf species by Vacuum Liquid Chromatography and its structure determined by NMR experiments. The anti-inflammatory effect of this alkaloid was evaluated using the carrageenan induced rat paw edema. The alkaloid administered intraperitoneally at doses of 30, 3 and 0.3 mg/kg. The inhibition of edema formation was independent of the alkaloid doses in the first hour (60% approx) and dose-dependent at the three and five hours after administration of carrageenan. This work shows the for first time the systemic anti-inflammatory effect of canthin-6-one.

Keywords: *Zanthoxylum elephantiasis* Macf, NMR, alkaloids, canthin-6-one, anti-inflammatory.

INTRODUCCIÓN

El uso de las plantas medicinales como materia prima para la producción de extractos o para el aislamiento de sustancias naturales se encuentra actualmente en total expansión. Las plantas medicinales constituyen el 25% de las prescripciones médicas en los países industrializados, y en los países en desarrollo representan un 80% del arsenal terapéutico (Sharapin y col, 2000). El género *Zanthoxylum* es una fuente rica en alcaloides de diversa polaridad, dicha familia de compuestos es responsable de la mayoría de las actividades farmacológicas que se le atribuye a especies de este género. En la flora cubana se encuentran 25 especies de *Zanthoxylum* 15 de las cuales son endémicas (Diéguez y col, 2004). Varias de estas especies han

sido usadas por la población mundial para la cura de enfermedades producidas por microorganismos, en procesos inflamatorios, afecciones de la piel, parásitos intestinales entre otras enfermedades (NAPRALERT, 1975-2003 y Roig, 1988). Teniendo en cuenta estos antecedentes se planteó como hipótesis de trabajo que es posible obtener algún metabolito secundario a partir de la corteza de *Zanthoxylum elephantiasis* Macf con propiedades farmacológicas de importancia para la salud humana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Procesamiento del material vegetal

La corteza de *Zanthoxylum elephantiasis* Macf fue colectada en la provincia de Pinar del Río, Cuba en

Marzo 2005. Una muestra de esta especie fue depositada herbario del Instituto Pedagógico de Pinar del Río codificado como: No. 9204. La especie fue identificada por Ramona Oviedo, del Instituto de Ecología y Sistemática, Cuba).

Extracción

La corteza seca (1500 g) fue macerada en etanol, el extracto seco se lavó con HCl 0.5 N y posteriormente se realizó una extracción líquido-líquido con éter de petróleo: benceno (1:1, v/v). El extracto acuoso se alcalinizó hasta un pH = 9 con NH₄OH y posteriormente se realizó una extracción líquido-líquido con CHCl₃: EtOH (2:1, v/v). El extracto obtenido luego de la extracción con CHCl₃: EtOH fue concentrado y posteriormente sometido a una Cromatografía Líquida Vacío (CLV).

Método de identificación

La estructura del compuesto aislado fue determinado por IR (KBr, cm⁻¹), RMN ¹H (CDCl₃), RMN ¹³C (CDCl₃) y RMN 2D.

Efecto antiinflamatorio

El efecto anti-inflamatorio del compuesto obtenido fue determinado mediante una modificación del método utilizado por Boughton-Smith y cols de edema en la pata inducido por carragenina (Boughton y col. 1993). Los animales fueron divididos en 5 grupos de 7 ratas cada uno. El grupo control positivo recibió por vía oral indometacina (10 mg/kg, Sigma, St. Louis, EU), los grupos prueba recibieron el producto aislado a 30, 3 y 0.3 mg/kg suspendido en una solución de Tween 80. Un grupo recibió solamente la solución de tween 80. Treinta minutos después de la administración por vía intraperitoneal de los diferentes productos se le administró una suspensión de 0.1 mL al 1 % de carragenina en solución salina en la pata derecha a cada animal.

El desplazamiento de volumen de la pata fue medido con ayuda de un pletismómetro. Las mediciones fueron realizadas a 1, 3 y 5 h después de la administración de la carragenina

Análisis estadístico

Análisis estadístico

Fue realizado por el programa SPSS. Las medias fueron comparadas por el test no paramétrico Kruskal- Wallis y el test Dunnett's posteriormente.

RESULTADOS

Rendimiento del proceso de extracción.

Durante el proceso de extracción se obtuvieron 2 fracciones: la primera a partir de la extracción con éter de petróleo: benceno del lavado ácido del extracto (fracción A) y la segunda obtenida de la basificación de la fase acuosa con amoníaco y posterior extracción con cloroformo: metanol (fracción B). Para la fracción A se obtuvo un rendimiento de 0,027 % y para la B el rendimiento fue de 0,14%. Teniendo en cuenta el rendimiento de cada fracción y su comportamiento por Cromatografía en Capa Delgada se decide realizar la CLV a la fracción B, de esta cromatografía resultaron 67 fracciones que fueron reunidas en 11 fracciones fundamentales de acuerdo a la similitud en los valores de R_f de las manchas reveladas con el reactivo Dragendorf, de una de estas fracciones precipitó un sólido cristalino de color amarillo.

Identificación del compuesto

6 H-Indolo [3,2,1-de][1,5] naftyridin-6-ona (canthin-6-ona): polvo cristalino amarillo; P_f= 155-156 °C; IR ν_{max} 1610-1450 y 1668 cm⁻¹; ¹H RMN (CDCl₃, 250 MHz) δ 6.88 (1H, d, J=9.8 Hz, H-5); δ 7.42 (1H, dd, J= 7.9, H-10); δ 7.59 (1H, dd, J=7.9, H-9); δ 7.81 (1H, d, J=5.0 Hz, H-1); δ 7.91 (1H, d, J=9.8 Hz, H-4); δ 7.96 (1H, d, J=7.9 Hz, H-11); δ 8.51 (1H, d, J=7.9 Hz, H-8); δ 8.71(1H, d, J=5.0 Hz, H-2); ¹³C RMN (CDCl₃, 250 MHz). δ 159.38 (C-6); δ 116.00 (C-1); δ 117.14 (C-8); δ 122.52 (C-11); δ 124.22 (C- 11a); δ 125.55 (C-10); δ 128.88 (C-5); δ 130.08 (C-11b); δ 131.85 (C-11c); δ 138.08 (C-3a); δ 139.25 (C-7a); δ 139.50 (C-4); δ 139.75 (C-9); δ 145.77 (C-2) (Fig.1).

Figure 1. Estructura del 6 H-Indolo [3,2,1-de][1,5] naftyridin-6-ona (Canthin-6-ona)

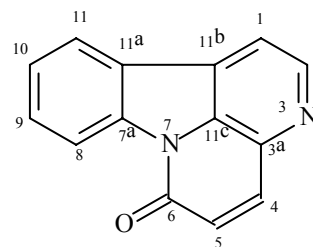


Tabla 1. Efecto de la canthin-6-ona sobre el edema plantar inducido por carragenina

Tratamiento	Dosis mg/kg	Tiempo (h)					
		1		3		5	
		% Inh	VD± ES	% Inh	VD± ES	% Inh	VD± ES
Canthin-6-ona	0.3	59.1*	0,37± 0,04	30.9*	0,80±0,07	18.5	1,10±0,07
	3	61.3*	0,35± 0,04	34.5*	0,76±0,13	29.0*	0,96±0,06
	30	63.5*	0,33± 0,04	49.1*	0,59±0,09	40.8*	0,80±0,12
Indometacina	10	77.3*	0,20±0,005	73.8*	0,31±0,02	70.8*	0,39±0,04

Los valores son expresados como porciento de inhibición del edema plantar inducido por carragenina y desplazamiento de volumen ± error estándar con respecto al grupo control. *p<0.05 comparado con los valores del control

Efecto Antiinflamatorio

La administración de canthin-6-ona (0.3, 3.0 y 30 mg/Kg) reduce significativamente el edema plantar inducido por carragenina, en la primera hora (fase temprana) la canthin-6-ona muestra una reducción del edema plantar de 63.5, 61.3 y 59.1 % independientemente de la dosis administrada comparable con el efecto producido por la endometacina con 77.3 % de la inhibición de la inflamación (table 1). El efecto antiinflamatorio se mantiene durante las 3 y 5 h (fase tardía) después de la administración de la carragenina, al cabo de las 5h el efecto tiende a disminuir para el caso de las dosis de 3 y 0.3 mg/Kg.

DISCUSION

La canthin-6-ona es un alcaloide que ha sido aislado de otras especies del género, también de la propia especie *Zanthoxylum elephantiasis* Macf pero que crece en otras regiones del mundo; en la especie cubana este compuesto es mayoritario y a juzgar por la abundancia de canthin-6-ona en otras especies del género se le puede considerar como un marcador taxonómico del mismo. Los datos espectroscópicos obtenidos para el compuesto aislado fueron comparados con los encontrados en la literatura para la canthin-6-ona (Koike y Ohmoto. 1985) resultando ser el mismo compuesto; se le atribuye según la literatura consultada actividad frente a la malaria efecto antifúngico, con estos propósitos ha sido usada en el noreste de Tailandia. En la literatura consultada no se hace referencia a un estudio de su efecto antiinflamatorio, la idea de determinar este tipo de actividad surge gracias a un estudio previo de nuestro grupo de trabajo donde realizando un tamizaje a varias especies se demuestra el efecto antiinflamatorio de un extracto etanólico de la corteza

de esta especie, al ver la abundancia de este metabolito en ese extracto se planteó la posibilidad de que fuera el responsable de la actividad farmacológica del extracto. El efecto antiinflamatorio de la canthin-6-ona fue estadísticamente significativo para casi todas las dosis utilizadas. Solamente en la primera hora después de la administración de la carragenina el efecto antiinflamatorio sobrepasó el 50%, la canthin-6-ona fue efectiva desde la primera fase de la inflamación, el resultado indica que el compuesto puede actuar sobre la degranulación mastocítica, la liberación de serotonina y bradiquinina, modulación de citoquinas pro-inflamatorias como IL-1 y TNF α todos estos importantes mediadores de la inflamación activados desde la primera fase de la inflamación. Los valores del por ciento de inhibición del edema plantar constituyen resultados preliminares para predecir el efecto antiinflamatorio de canthin-6-ona, es necesario aún determinar el mecanismo de acción por el cual actúa en la inhibición del edema plantar.

CONCLUSION

La canthin-6-ona aislada de *Zanthoxylum elephantiasis* Macf produce reducción del edema plantar inducido por carragenina a dosis de 0,3; 3 y 30 mg/Kg.

REFERENCIAS

- Boughton NK, Evans SM, Laszlo F, Whittle BJ and Moncada S. 1993. The induction of nitric oxide synthase and intestinal vascular permeability by endotoxin in the rat. *Br. J. Pharmacol.* **110**: 1189–1195.
- Diéguez R, Rivas Y, Prieto S, Garrido G y Molina J. 2004. Potencialidad del género *Zanthoxylum* como fuente de agentes con actividad biológica. *Acta Farm. Bonaerense*, 23(2): 243-251.

- Kazuo Koike and Taichi Ohmoto. 1985. Carbon-13-Nuclear Magnetic Resonance study of canthin-6-one alkaloids. Chem Pharm Bull. 33(12)5239-5244.
- NAPRALERT: Board of Trustees University of Illinois (SM). 1975-2003. Database, Chicago, E.U.
- Roig JT. 1988. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. Ed Científico-Técnica, La Habana, Cuba.
- Sharapin N, Machado L, Souza E, Rocha de Albuquerque E.M, Valverde E, Lopes J.M. 2000. "Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos". Ed. Roberto Pinzón S. Santa Fé de Bogotá. Colombia.



© 2008 The authors, licensee BLACPMA ISSN 0717 7917

