

¿Poseen Algunas Algas de las Costas Cubanas Propiedades Antiinflamatorias, Analgésicas y Antioxidantes?

Do the Algae of the Cuban Shelf Possess Anti-Inflammatory, Analgesic and Antioxidant Properties?

M. Llanio; M. D. Fernández; A. Mata; B. Cabrera; O. Valdés-Iglesias; C. Díaz; Y. Cabranes

Departamento de Bioactivos Marine y Productos Naturales. CEBIMAR. Instituto de Oceanología.

Loma y 37, Nuevo Vedado, Plaza. E-mail: vdc@oceano.inf.cu

Resumen

Los organismos marinos representan una nueva fuente para el descubrimiento de agentes antiinflamatorios (Grace et al, 1994), fundamentalmente obtenidos a partir de esponjas, celenterados y algas. Un compuesto representativo de las algas debido a su gran número de propiedades es el epitaondiol que inhibe a la fosfolipasa A_2 y la formación y/o liberación de prostaglandinas y leucotrienos. Teniendo en cuenta estos antecedentes, decidimos evaluar extractos de cuatro especies de algas *Rhodophytas* de los géneros *Laurencia*, *Acantophora* y *Gracilaria* en los modelos de edema de la oreja de ratón inducido por aceite de croto, contorsiones inducidas por ácido acético en ratón y el ensayo del ácido tiobarbitúrico (TBA), con el objetivo de detectar en los mismos propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antioxidantes. El extracto del alga del género *Acantophora* inhibe el edema de la oreja del ratón inducido por aceite de croto en un 58 % y los extractos de los géneros *Laurencia* y *Gracilaria* inhiben las contorsiones inducidas por ácido acético con valores superiores al 50 %. Ninguno de los extractos estudiados tuvo efecto en el ensayo del TBA. Podemos concluir que los extractos de algas estudiados parecen tener propiedades antiinflamatorias y analgésicas probablemente inhibiendo la formación y/o liberación de prostaglandinas.

Palabras claves: antiinflamatorio, analgésico, antioxidante, algas.

Abstract

Marine organisms represent a new source for the discovery of anti-inflammatory agents (Grace et al., 1994), mainly obtained starting from sponges, coelenterates and algae. A representative compound from algae, due to its great number of properties, is the epitaondiol that inhibits the phospholipase A_2 and the formation and/or release of prostaglandins and leukotrienes. Taking into account these antecedents, we decided to evaluate extracts from four *Rhodophyte* algae species of the genera *Laurencia*, *Acantophora* and *Gracilaria* in the models of mouse ear oedema induced by croton oil, writhing induced by acetic acid in mouse, and the assay of the tiobarbituric acid (TBA). The objective was to detect anti-inflammatory, analgesic and antioxidant properties of the extracts. The extract from the algae of the genus *Acantophora* inhibits the mouse ear oedema induced by croton oil in 58%, and the extracts from the genera *Laurencia* and *Gracilaria* inhibit the writhing induced by acetic acid with values higher than 50%. None of the studied extracts had any effect in the assay of the TBA. Therefore, it can be concluded that the studied algae extracts seem to have anti-inflammatory and analgesic properties, probably inhibiting the formation and/or release of prostaglandins.

Key words: anti-inflammatory, analgesic, antioxidant, algae.

Introducción

El medio marino representa una fuente potencial de sustancias con propiedades antiinflamatorias, aisladas fundamentalmente de esponjas, celenterados y algas. Centrando la atención en las algas, diferentes grupos han realizado pesquisaje en extractos obtenidos de estos organismos, encontrando que los de algunas especies como *Galaxaura oblongata*, *Udotea petiolata* e *Hypnea musciformis* presentan una elevada potencia antiinflamatoria en modelos de edema (Alcaraz y Payá, 1994; Payá et al, 1993).

Un compuesto representativo de las algas debido a su gran número de propiedades es el epitaondiol que inhibe a la fosfolipasa A₂ y la formación y/o liberación de prostaglandinas y leucotrienos. (Alcaraz y Payá, 1994) Otros compuestos aislados de algas con propiedades antiinflamatorias son la escitonemina, que es un pigmento presente en los espacios extracelulares del alga verde-azul *Lyngbya majuscula* y que presenta una potente actividad en el modelo del edema de la oreja inducido por éster de forbol, y el pacifenol, que actúa a nivel de las prostaglandinas, leucotrienos y especies reactivas de oxígeno. (Wylie et al, 1997)

En este trabajo se muestran los resultados de la evaluación de cuatro (4) extractos etanólicos aislados de algas *Rodophytas* de la plataforma cubana, al norte de la provincia Habana, con el objetivo de buscar propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antioxidantes.

Materiales y Métodos

Preparación de los extractos

Se estudiaron dos extractos de *Laurencia* I y II, colectados en el bajo de Santa Ana y en el rincón de Guanabo respectivamente, uno de *Acantophora* y otro de *Gracilaria* del río Banes. El bajo de Santa Ana es una zona contaminada con desechos humanos y sólidos; al río Banes se vierten residuales de la industria azucarera, mientras que el rincón de Guanabo es una zona limpia.

Las especies se colectaron y se lavaron con agua destilada. Posteriormente se tomaron 50 g de la muestra y se disolvieron en 150 mL de etanol, los que se homogenizaron, centrifugaron y concentraron a volumen mínimo a 38-40 °C.

Contorsiones inducidas por ácido acético en ratón.

Se utilizaron ratones machos OF1 de 18 a 22 g de peso corporal en grupos de 6 animales cada uno, a los que se les inyectó intraperitonealmente (i.p.) extractos o indometacina (control positivo) en dosis de 100 mg/Kg; o solución salina (control negativo). A los 30 minutos se inyectó (i.p.) ácido acético al 0,8 %. En todos los casos el volumen administrado fue de 0,01 mL/g. Posteriormente se colocaron los ratones en cajas separadas y se observaron durante 20 minutos registrándose el número de contorsiones del cuerpo y los estiramientos de las extremidades (Collier et al, 1968).

Edema de la oreja del ratón inducido por aceite de croto.

Se utilizaron ratones OF1 machos de 25 a 30 g de peso corporal divididos en grupos de 6 animales cada uno a los que se les inyectó intraperitonealmente (i.p.) en dosis de 100

mg/Kg el extracto, a los controles positivos indometacina y a los controles negativos solución salina. En todos los casos el volumen inyectado fue de 0.01 mL/g. A los 30 minutos se les administró tópicamente aceite de croto (40 µg/oreja). En ambos casos los animales recibieron un volumen de 20 µL del irritante en la superficie interna de la oreja derecha, mientras que en la izquierda recibieron igual volumen del solvente (acetona). Transcurridas 6 horas de haber aplicado el aceite de croto (Tubaro et al, 1986) los animales se sacrificaron por tracción cervical y se realizó un ponchete en cada oreja de 7mm de diámetro, los que se pesaron en una balanza analítica. Como medida de la inflamación se toma la diferencia de peso (mg) entre los dos ponchetes de cada animal.

Test del ácido tiobarbitúrico (TBA)

Se utilizó homogenado cerebral de ratas Wistar (machos, 200 g) en buffer fosfato pH 7.4. La lipoperoxidación espontánea se deja transcurrir en presencia del extracto 10 mg/mL (o sin este en caso de los controles t=40) durante 40 minutos a 37 °C y con agitación. Al cabo de este tiempo la misma se detiene colocando los tubos de reacción en hielo y añadiendo ácido acético 20 %, excepto a los tubos control (t=0) que lo reciben al inicio de la reacción química. Luego se añade TBA al 5% en ácido acético al 20 % (excepto a los tubos blanco), se incuba durante 1 hora a 85 °C, y se añade SDS (dodecil sulfato sódico) al 10 % y se centrifuga a 5000 r.p.m. Por último se mide la absorbancia a 532 nm. La preparación de los tubos se hace por triplicado y se calcula el promedio de las tres lecturas.

Estadística

Como método estadístico se utilizó un ANOVA de una sola vía con la prueba de Duncan a través del programa computarizado STATISTICA.

Para el por ciento de inhibición se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{(Cr - Tr)}{(Cr)} \times 100$$

Cr : animales controles

Tr : animales tratados

En ambos casos la comparación se realizó con el control negativo.

Resultados y Discusión

Las figuras muestran los resultados obtenidos al evaluar los 4 extractos en los diferentes ensayos. En la figura 1 se muestran los resultados de los extractos en el modelo del edema de la oreja del ratón inducido por aceite de croto, donde el extracto de *Acantophora* presenta un por ciento de inhibición significativo, por lo que parece actuar a nivel de la vía ciclooxigenasa, responsable de la formación de prostaglandinas en el proceso inflamatorio.

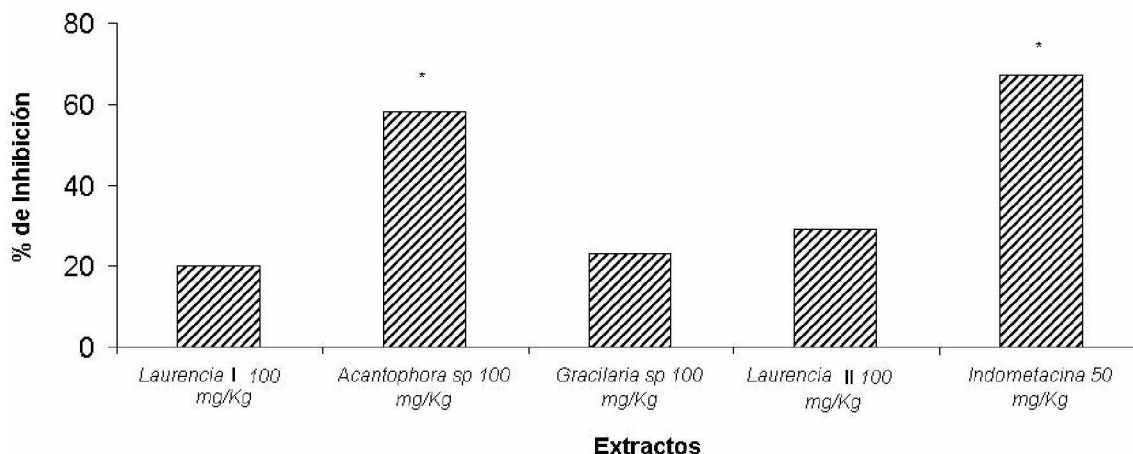


Fig. 1. Efectos de los extractos en el modelo de edema de la oreja del ratón inducido por aceite de croto (* $p < 0.05$).

Fig. 1. Effects of the extracts in the mouse ear oedema induced by croton oil (* $p < 0.05$).

Resultados similares se conocen de la literatura internacional. Por ejemplo, la Escitonemina obtenida de algas presenta una potente actividad antiinflamatoria en el ensayo del edema de la oreja del ratón inducido por éster de forbol; este pigmento además inhibió irreversiblemente a la fosfolipasa A_2 de veneno de abeja. (Wylie et al, 1997). El Epitaondiol también aislado de un alga, muestra una potente actividad antiinflamatoria tópica relacionada con la inhibición de la acumulación de leucocitos y disminución de la liberación de eicosanoides a través de la vía ciclooxigenasa, y el Pacifenol actúa a nivel de la síntesis de prostaglandinas, leucotrienos y especies reactivas de oxígeno. . (Alcaraz y Payá, 1994)

En la figura 2 se observan los efectos de los extractos en el modelo de las contorsiones inducidas por ácido acético en ratón, donde el extracto de *Laurencia I* parece ser un potente analgésico al inhibir las contorsiones inducidas por ácido acético en ratón al 82 %. Los extractos de *Laurencia II* y de *Gracilaria* también inhiben la respuesta en este modelo, aunque con porcentajes de inhibición menores.

El modelo de contorsiones inducidas por ácido acético nos permite conocer la actividad analgésica que manifiestan los extractos. El mecanismo de acción de este ensayo no se encuentra completamente dilucidado, no obstante se conoce que los compuestos inhibidores de la formación y/o liberación de prostaglandinas también manifiestan actividad analgésica (Neves et al, 1993).

En la figura 3 los resultados de los extractos en la prueba del TBA mostraron que ninguno presentó diferencias significativas respecto al control negativo $t=40$.

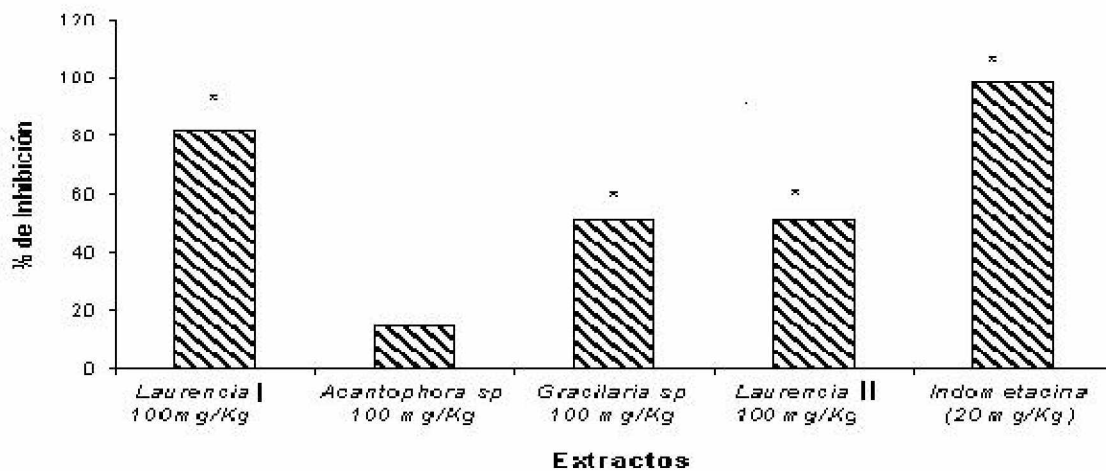


Fig. 2. Efectos de los extractos en el modelo de las contorsiones inducidas por ácido acético en ratón (*p<0.05).

Fig. 2. Effects of the extracts in the model of writhing induced by acetic acid in mouse (*p<0.05).

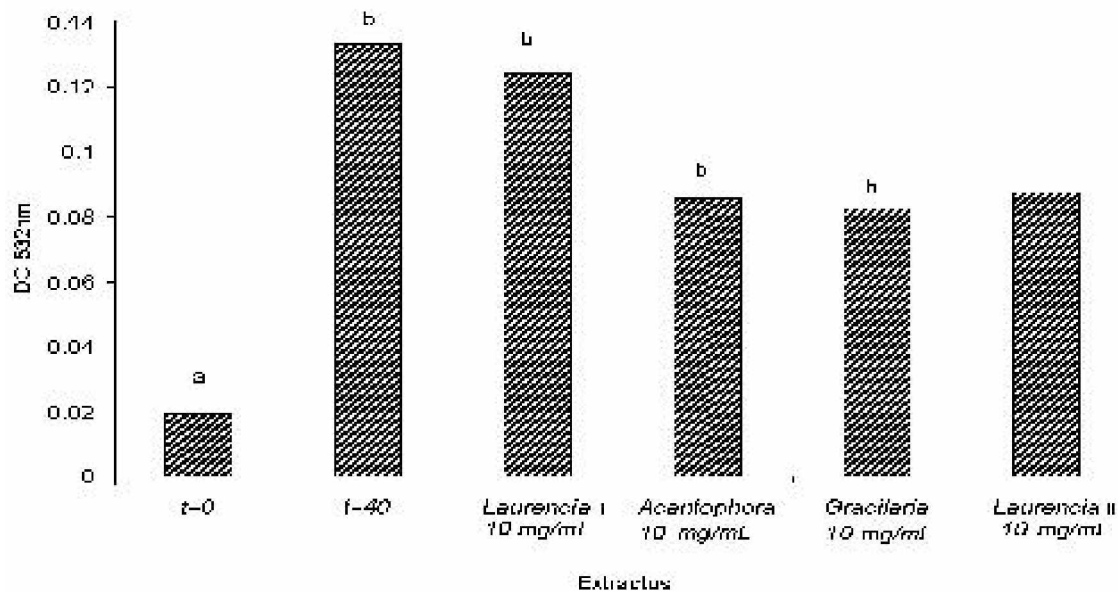


Fig. 3. Efectos de los extractos en el test del TBA (*p<0.05).

Fig. 3. Effects of the extracts in the TBA test (*p<0.05).

Conclusiones

1. El extracto de *Acantophora* mostró actividad antiinflamatoria, al parecer inhibiendo la vía ciclooxigenasa.
2. Los extractos de *Laurencia* y el de *Gracilaria* mostraron actividad analgésica, siendo más potente el de *Laurencia* l.
3. Ningún extracto mostró actividad antioxidante como inhibidor de la peroxidación lipídica.

Bibliografía

- Alcaraz, M.J. and Payá, M. (1994) Productos naturales de origen marino con actividad antiinflamatoria. Actas del II Simposio Internacional de Química de Productos Naturales y sus Aplicaciones. Concepción. Chile.
- Collier, H. O., Dinnen, L. C., Johnson, C. A., and Schneider, C. (1968) The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. Br. J. Pharmacol. 32, 295-310.
- Grace, K. J. S., Zavortinik, D., and Jacobs, R. S. (1994) Inactivation of bee venom phospholipase A₂ by a sesquiterpene furanoic acid marine natural product. Biochem. Pharmacol. 47, 1427-1434.
- Neves, M. C., Neves, P. C., Zanini, J. C., Medeiros, Y. S., Yunes, R. A., and Calixto, J. B. (1993) Analgesic and anti-inflammatory activities of the crude hydroalcoholic extract obtained from the bark of *Hymenaea martiana*. Phytother. Res. 7, 356-362.
- Payá, M., Ferrándiz, M. L., Sanz, M. J., Bustos, G., Blasco, R., Rios, J. L., and Alcaraz, M. J. (1993) Study of the antioedema activity of some seaweed and sponge extracts from the mediterranean coast in mice. Phytother. Res. 7, 159-162.
- Tubaro, A., Dri, P., Melato, M., Mulas, G., Biachini, P., Del Negro, P., and Della Loggia, R. (1986) In the croton oil ear edema test the effects of non steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are dependent on the dose irritant. Agents Actions. 19, 371-373.
- Wylie, B. J., Ernst, N. B., Grace, K. J., and Jacobs, R. S. (1997) Marine natural products as phospholipase A₂ inhibitors. In: Phospholipase A₂: basic and clinical aspects in inflammatory diseases. Edited by W. Uhl, T. J. Nevaleinen, M. W. Büchler, Prog. Surg. Basel, Karger, Vol. 24, 146-152.
- Young, J., Spires, D., Bedord, C., Wagner, B., Ballaron, S. and De Young, L. (1984) The mouse ear inflammatory responses to topical arachidonic acid. J. Invest. Dermatol. 82, 367.