

## **EFFECTO ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS FLUIDO Y DE FLAVONOIDES DEL *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. (OREGANO FRANCÉS)**

Lic. Jorge Daniel García Salmán,<sup>1</sup> Lic. Teidy Eloísa García Jiménez,<sup>2</sup> Lic. Rosa Menéndez Castillo,<sup>1</sup>  
y Lic. María Teresa Buznego Rodríguez.<sup>3</sup>

### RESUMEN

Se realizaron ensayos con los extractos de flavonoides y fluido de *Plectranthus amboinicus* en un modelo de peroxidación lipídica de tejido cerebral, comparados con un antioxidante clásico, el  $\alpha$ -tocoferol. El extracto de flavonoides tuvo un efecto inhibitorio sobre la formación de productos reactivos al ácido tiobarbitúrico comparativamente mayor que el  $\alpha$ -tocoferol, con una dosis de inhibición 50 estimada en 10 mg/mL, mientras que para el  $\alpha$ -tocoferol este valor oscila entre 40 y 50 mg/mL en el medio de reacción. En cambio, el extracto fluido mostró una dosis de inhibición estimada en 70 mg/mL. El extracto de flavonoides alcanza el 100 % de inhibición a los 90  $\mu$ g/mL y el extracto fluido a los 400  $\mu$ g/mL. Estos resultados pudieran relacionarse con los efectos antiepilépticos del orégano francés en varios modelos experimentales de epilepsia.

**Palabras clave:** *Plectranthus amboinicus*;  $\alpha$ -tocoferol; Flavonoides; Antioxidante; Epilepsia.

### INTRODUCCION

Se sabe que las hojas del *Plectranthus amboinicus* (orégano francés) tienen un alto contenido de flavonoides.<sup>1</sup> Los flavonoides han demostrado ser fuertes atrapadores de radicales libres y al mismo tiempo son capaces de inhibir la formación de estos últimos al enlazarse con iones de metales de transición. También catalizan muchos procesos que conducen a la formación de dichos radicales.<sup>2,3</sup>

Por otra parte, el desarrollo de focos epilépticos en el sistema nervioso central ha sido relacionado con alteraciones en la membrana de las neuronas

que involucran la generación de radicales libres y la peroxidación de los lípidos de membrana.<sup>4</sup>

En la epilepsia postraumática y en el desarrollo de las epilepsias idiopáticas infantil y juvenil se ha propuesto la peroxidación lipídica entre los mecanismos que ocasionan estos estados.<sup>5-7</sup> Existen modelos de epilepsia que inducen peroxidación en la membrana neuronal que conducen a su peroxidación, como son los modelos de excitotoxicidad con inyecciones de ácido kaínico<sup>8</sup> o de hierro.<sup>9</sup> Se sabe que el  $\alpha$ -tocoferol tiene efectos anticonvulsivantes en varios modelos de epilepsia experimental,<sup>10,11</sup> por lo tanto, puede pensarse que los

<sup>1</sup> Licenciado(a) en Bioquímica. Investigador(a) Agregado(a).

<sup>2</sup> Licenciada en Bioquímica. Aspirante a Investigadora.

<sup>3</sup> Licenciada en Ciencias Biológicas. Investigadora Auxiliar.

compuestos con actividad antioxidante sean capaces de ejercer una acción protectora sobre las membranas de las células y contrarrestar tanto la aparición de las descargas epilépticas, como sus efectos deteriorantes.

Se piensa que los flavonoides del orégano francés tengan efecto antioxidante y pudieran contribuir a su actividad antiepiléptica, lo cual demostraría el extracto acuoso de la planta.<sup>12,13</sup>

El objetivo de esta experiencia fue demostrar el posible efecto antioxidante de los extractos fluido y de flavonoides del orégano francés, en un modelo adecuado al efecto para comparar los dos extractos con el  $\alpha$ -tocoferol o vitamina E.

## MATERIALES Y METODOS

La especie *Plectranthus amboinicus* fue identificada por el doctor Víctor Fuentes, con el registro 4579 en la Estación de Plantas Medicinales "Dr. Juan Tomás Roig". El material vegetal fue cosechado y secado artificialmente a temperatura entre 35 y 38 °C.

El extracto fluido se obtuvo por percolación según la NRSP 311, con la utilización de alcohol etílico al 30 % como menstruo y 16 % de sólidos totales.

El crudo de flavonoides totales se obtuvo mediante la extracción de alcohol etílico al 90 %, cambio de fase con acetato de etilo y concentración hasta la sequedad.<sup>14</sup>

La presencia de flavonoides se comprobó mediante el ensayo de Shinoda;<sup>15</sup> fueron detectados flavonas, flavonoides y flavononas en el crudo de flavonoides mediante la cromatografía en capa delgada con las condiciones siguientes:<sup>12</sup>

1. Placas prefabricadas Merck de celulosa.
2. Sistema de solventes: n-butanol:ácido acético:agua (4:1:5).
3. Reveladores: luz Uv 366 nm, vapores de amoníaco,  $\text{Cl}_3\text{Fe}$  5 % en metanol,  $\text{Cl}_3\text{Al}$  5 % en metanol.

El succinato de  $\alpha$ -tocoferol (Nisshin, Japón) fue suministrado por el laboratorio "Reinaldo Gutiérrez".

Para la experiencia se escogió un modelo de autooxidación de homogeneizado de tejido cerebral. Los peróxidos lipídicos se acumulan en homogeneizado de cerebro mucho más rápido que en el cerebro intacto. Una preparación de este tipo a 37 °C se autooxida y se generan radicales libres, aldehídos y peróxidos. La peroxidación de homogeneizado de

cerebro ha sido usada durante muchos años para medir la actividad antioxidante.<sup>17</sup>

En el experimento se añadió a la preparación ácido ascórbico y  $\text{Fe}^{++}$  con el objetivo de activar la peroxidación y comprobar la efectividad de los extractos sobre ésta, llamada peroxidación lipídica ascorbato dependiente, ampliamente utilizada en este campo.<sup>18-22</sup> Se emplearon mezclas de reacción a partir de homogeneizado de cerebro de ratas adultas, Long-Evans en *buffer* Tris-HCl 30 mM con pH 7,4, con 0,1  $\mu\text{moles}$  de  $\text{FeSO}_4$  y 2,5  $\mu\text{moles}$  de ácido ascórbico para un volumen final de 1 mL, en presencia de diferentes concentraciones de  $\alpha$ -tocoferol, extracto de flavonoides o extracto fluido con sus mezclas de reacción de blanco respectivas. La reacción transcurrió a 37 °C con agitación. Posteriormente se determinó la formación de productos reactivos al ácido tiobarbitúrico (TBARPs) en 10 minutos de reacción. Se calculó el porcentaje de inhibición en cada punto como 100 - el porcentaje de absorbancia obtenido a 535 nM del ensayo en ausencia de inhibidores.

La estimación de dosis de inhibición (ID 50) se obtuvo por interpolación de los puntos experimentales situados alrededor del 50 % de inhibición. Se ofrece la desviación estándar como medida del error.

## RESULTADOS

Los porcentajes de inhibición de la reacción contra la concentración en las tres preparaciones se observan en la tabla.

Tabla. Porcentajes de inhibición del  $\alpha$ -tocoferol y de los extractos de flavonoides y fluido para cada concentración

	$\mu\text{g/mL}$	N	% I	+/-	DE
Flavonoides	2	5	3	+/-	4,9
	4	2	36	+/-	6,1
	18	5	69	+/-	8,6
	90	1	100	+/-	-
	180	4	100	+/-	4,0
Extracto fluido	25	2	5	+/-	4,1
	100	2	61	+/-	8,3
	100	2	67	+/-	11,6
	500	4	100	+/-	0,0
$\alpha$ -tocoferol	25	2	33	+/-	10,2
	50	2	58	+/-	9,4
	100	2	63	+/-	1,9

Nota: Concentración:  $\mu\text{g/mL}$ . N: número de ensayos. I % +/- DE: porcentaje de inhibición +/- desviación estándar.

En la comparación del efecto antioxidante de las preparaciones sobre la base de su efecto máximo, se observa que los flavonoides inhiben completamente la formación de TBARPs a una concentración de 90 µg/mL. Por otra parte, el α-tocoferol no inhibe la reacción completamente, sino que de 50 a 100 µg/mL inhibe la formación de TBARPs alrededor del 60 % de su ensayo blanco. El extracto fluido alcanza este 60 % de inhibición a una concentración de 100 µg/mL, mientras que el α-tocoferol produce este mismo efecto a la mitad de esa concentración. La estimación de la ID 50 para comparar las preparaciones, a partir de los datos experimentales, arrojó un valor aproximado de 10 µg/mL para el extracto de flavonoides y de 70 µg/mL para el extracto fluido. El α-tocoferol presenta una situación intermedia, con una ID 50 de alrededor de 45 µg/mL.

## DISCUSION

Los ensayos realizados muestran un efecto antioxidante tanto en el extracto de flavonoides como en el extracto fluido de orégano francés, donde los flavonoides están también presentes, aunque en una concentración menor. El extracto de flavonoides fue capaz de inhibir la formación de TBARPs en un porcentaje mayor al del α-tocoferol y presentó una ID 50 de 4,5 veces menor. Por otra parte, el extracto fluido tiene un efecto comparable al del α-tocoferol a una concentración de 100 µg/mL, pero su ID 50 es 1,6 veces mayor.

Estos resultados son interesantes, ya que el α-tocoferol es universalmente reconocido como el bioantioxidante universal por excelencia. Estos efectos encontrados pueden atribuirse a la capacidad que poseen los flavonoides para atrapar radicales libres formados durante la autooxidación del homogeneizado y a su propiedad de formar enlaces con los cationes de Fe endógenos o añadidos, que activan la peroxidación.

La existencia de actividad antioxidante en los extractos de orégano francés puede estar relacionada con sus propiedades antiepilépticas.<sup>12,13</sup> Es posible atribuir dichos efectos a los flavonoides presentes en la planta y en sus extractos. No puede excluirse la posibilidad de que otros componentes no flavonoides presentes en los extractos tengan también actividad antioxidante o que potencien sinérgicamente el efecto antioxidante de los flavonoides.

## SUMMARY

**Author carried out assays with extracts of flavonoids and fluid from *Plectranthus amboinicus*, in a model of lipidic peroxidation of cerebral tissue, compared with a classic antioxidant, Alfa-tocopherol. Extract of flavonoids had an inhibitor effect on formation of products reacting to thiobarbituric acid, greater than Alfa-tocopherol, with a dose of inhibition 50 estimated from 10 mg/mL, whereas to Alfa-tocopherol, this value fluctuate between 40 and 50 mg/mL in the medium of reaction; however, fluid extract showed a dose of inhibition 50, estimated in 70 mg/mL. Extract of flavonoids reach 100 percent of inhibition in 90 µg/mL, and fluid extract in 400 µg/mL. Results could be related to antiepileptic effects from French Origan in some experimental models of epilepsy.**

**Key words:** *Plectranthus amboinicus*; Alfa-tocopherol; Flavonoids; Antioxidant; Epilepsy.

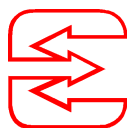
## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Brieskorn CH, Riedell W. Flavonoids from *Coleus amboinicus*. *Planta Med* 1977;31(4):308-9.
2. Havsteen, B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem Pharm* 1988;32(7):1141-8.
3. Seifulla PD, Borisova, IG. Problemas de la farmacología de los antioxidantes (Rus). *Farmacologia i Toksikologia* 1990;53:6-14.
4. Meldrum, BS. Metabolic factors during prolonged seizures and their relation to nerve death. En: Delgado-Escueta AV *et al.*, eds. *Advances in Neurology: Status Epilepticus*. New York: Raven Press, 1983:261-75.
5. Sadzadeh SM. Hemoglobin potentiates central nervous system damage. *J Clin Invest* 1987;79:662-4.
6. Mori A, Hiramatsu M, Yokoi I, Edamatsu R. Biochemical pathogenesis of post traumatic epilepsy. *Pavlov J Biol Sci* 1990;25(2):54-62.
7. Willmore LJ. Post-traumatic epilepsy: cellular mechanisms and implications for treatment. *Epilepsia* 1990;31(53 suppl):67-73.
8. Striha L, Joo F, Szerdahelyi P. Accumulation of calcium in the rat hippocampus during kainic acid seizures. *Brain Res* 1985;360:51-7.
9. Divarakam P, Wiggins RC. Tocopherol in brain metabolism and disease: a review. *Metab Brain Dis* 1987;2:1-16.
10. Willmore IJ, Ruben JJ. Antiperioxidant pretreatment and iron induced epileptiform discharges in the rat: EEG and histopathologic studies. *Neurology* 1981:63-9.
11. Kryzhanovskii GN, Nikushkin EV, Brasalvski VE, Glebov RN. Lipid peroxidation in a focus of hyperactivity in the rat cerebral cortex. *Eksp Bio Med* 1980:14-6.
12. Buznego MT, Pérez-Saad H, Carrión L. Study of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. (French Origanum) in the penicillin focus. En: Hernández N, Llanio M, Fernández

- MA eds. Physiopathology of the Nervous System. La Habana:Editorial Academia, 1992:164-8.
13. *Buznego MT, Pérez-Saad H, Manccini ME, Garriga E, Díaz O.* Chronic effect of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. (French Origanum) in several models of experimental epilepsy. En: Hernández N, Llanio M, Fernández MA eds. Physiopathology of the Nervous System. La Habana:Editorial Academia, 1992:173-7.
  14. *Markham KR.* Isolation and analytical techniques. En: Techniques of flavonoid identification. London:Academic Press, 1982:15-35.
  15. *Domínguez XA.* Flavonoides y compuestos afines. En: Métodos de Investigación Fitoquímica. México:Editorial Limusa, 1974:81-90.
  16. *Stahl E.* Thin layer chromatography. En: A laboratory Handbook 2nd., New York:Springer-Verlag, 1969:1041.
  17. *Halliwell B, Gutteridge, J.* Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Met in Enzymol* 1990;22:5-11.
  18. *Zatsepin EP, Chirayev NN.* Efecto de los colinolíticos centrales sobre el proceso de peroxidación lipídica (Rus) *Biuletén Eksperimentalnoi Biologii i Meditsini* 1987;104:8.
  19. *Lemeshko VV.* Peroxidación de los lípidos de las biomembranas y su regulación enzimática en el envejecimiento de la rata (Rus) *Ukrainskii bioximicheskii zhurnal* 1987;59(2):50-7.
  20. *Ciuffi M, Gentilini F, Zilleti L.* Lipid peroxidation induced in vivo by iron carbohydrate complex in the rat brain cortex. *Neurochem Res* 1991;16(1):43-9.
  21. *García JD.* Progresión de la peroxidación del tejido cortical a edades tempranas en ratas. En: Basco E, Hernández N, Nico S eds. Memorias del II Taller de Neurociencias, Las Tunas 1989. La Habana:Editorial Academia, 1990:15.
  22. *Peñate T, Rodríguez DM, García JD, Martínez E.* Efecto de una mezcla oxidante sobre el transporte de glucosa en membrana plasmática. En: Hernández N, Fernández MA eds. Las Neurociencias y La Salud del Hombre. La Habana:Editorial Academia, 1990:170-2.
- Lic. Jorge Daniel García Salmán.* Instituto de Neurología y Neurocirugía. Avenida 29 y Calle D, El Vedado, Plaza de la Revolución, Ciudad de La Habana, Cuba.

## IV CONGRESO NACIONAL DE ENDOCRINOLOGIA Y DIABETES

La Habana, del 20 al 22 de noviembre de 1996



Tenemos el placer de invitarles a participar en el **IV CONGRESO NACIONAL DE ENDOCRINOLOGIA Y DIABETES** que se celebrará en La Habana del 20 al 22 de noviembre de 1996.

La temática central del congreso se ocupará de los *programas de atención en Endocrinología*.

- Programas de atención en diabetes.
- Programas de diagnóstico neonatal en hipotiroidismo congénito.
- Programas de atención en salud reproductiva.

Además de conferencias, simposios y *posters* sobre: crecimiento, pubertad, afecciones tiroideas, diabetes mellitus, síndrome de Cushing, osteoporosis, reproducción humana, endocrinología y envejecimiento.

Se preparará un agradable programa social para delegados y acompañantes.