

Hospital Militar Central "Dr. Luis Díaz Soto"

**EFFECTO ANTIVIRAL DE TINTURAS DE *Hypericum* spp. CULTIVADAS EN CUBA***Dra. Edelis Castellanos Puerto,<sup>1</sup> Dr. José Luis Pérez De Alejo<sup>2</sup> y Téc. Maribel Machin Lugones.<sup>3</sup>***Resumen**

Se realizó un estudio *in vitro* para demostrar la actividad antirretroviral de 2 especies de *Hypericum* obtenidas en Cuba (*fasciculatum* y *stypheleoides*); se trabajó con el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B, el cual se mezcló con ambas especies a las concentraciones de 1,5,10,20 y 30 mg/mL y se incubó durante 24, 48, 72 h y 7,14, y 21 días, y posteriormente se evaluó la disminución de la antigenicidad *in vitro* por un ensayo inmunoenzimático tipo *sandwich* que se utilizó para cuantificar el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B. Se apreció una disminución de la antigenicidad a partir de las 24 h para todas las concentraciones probadas, pero a partir de las 72 h se encontró una significativa disminución de esta antigenicidad. Este estudio representa una posibilidad para utilizar este producto en el tratamiento de enfermedades producidas por retrovirus como el virus de la hepatitis B y el VIH.

DeCS: PLANTAS MEDICINALES/ química; AGENTES ANTIVIRALES; ANTIGENOS DE SUPERFICIE DE LA HEPATITIS B.

**Summary**

A study *in vitro* was made to demonstrate the antiretroviral activity of 2 *Hypericum* species obtained in Cuba (*fasciculatum* and *stypheleoides*). Hepatitis b virus surface antigen (HbsAg) was used and mixed with both species at concentrations of 1,5,10,20 and 30mg/mL and then incubated at 24h, 48h, 72h and 7d, 14d and 21d. Then the reduction of antigenicity *in vitro* was evaluated by a sandwich-type immunoenzymatic assay ELISA that quantifies HbsAg. It was observed that antigenicity decreased at 24 h for all the tested concentrations; however, from 72h on, a significant reduction of antigenicity occurred at Ag concentrations below the limit values recorded for ELISA tests performed. This study represents a possibility to be used for HbsAg and in HIV treatment.

Subject headings: PLANTS, MEDICINAL/chemical;ANTIVIRAL AGENTS; HEPATITIS B SURFACE ANTIGENS.

La fitoterapia como ciencia novedosa en el estudio de las plantas medicinales ha tenido gran impacto por los resultados obtenidos en los últimos años, especialmente en los países desarrollados se han creado industrias que producen extractos y productos farmacéuticos de las plantas de mayor relevancia mundial, entre las que se encuentra el *Hypericum* que tiene varios géneros y más de 300 especies; de él se han estudiado sus efectos antidepresivos,<sup>1</sup> vasoprotectores y capilarotrópico e hipotensor, antioxidante, antimicrobiano y antiviral entre otros. Precisamente su actividad antiviral ha sido probada contra el citomegalovirus, coronavirus, adenovirus, rabdovirus (A, B, C) y retrovirus como el VIH.<sup>2</sup> Se plantea que inhibe la replicación viral y que la administración de bajas dosis previene las infecciones por estos. Con estos precedentes se decidió evaluar su efecto antirretroviral

contra el virus de la hepatitis B con el objetivo de demostrar que las tinturas de *Hypericum* disminuyen la antigenicidad del virus de la hepatitis B (HBs Ag) *in vitro*.

**Métodos**

Se trabajó con 2 tinturas de *Hypericum* (*fasciculatum* y *stypheleoides*) a las concentraciones de 1, 5, 10, 20 y 30 mg/mL que se enfrentaron a un estándar de antígeno que contiene 83,75 mg/mL de virus salvaje de hepatitis B; esta mezcla constituyó la muestra que se incubó por 24, 48 y 72 h; 7, 14 y 21 días para cuantificar la concentración de antígeno después por un ensayo inmunoenzimático (ELISA) tipo *sandwich*. Además se evaluó el mensturo en que se diluyó el

<sup>1</sup> Especialista de II Grado en Inmunología. Investigadora Agregada.

<sup>2</sup> Doctor en Ciencias de la Salud. Investigador Titular.

<sup>3</sup> Técnico Medio en Química.

*Hypericum*. El análisis estadístico de los resultados se realizó por descriptores y tablas. La antigenicidad se definió como las concentraciones de antígenos por debajo de los valores límites de los ensayos inmunoenzimáticos realizados.

## RESULTADOS

Todas las concentraciones estudiadas de ambos *Hypericum* tuvieron actividad antiviral, especialmente a partir de las 72 h, donde las concentraciones de antígeno *in vitro* fueron de cero o menor que 0,2 mg/mL, concentración mínima que detecta el método empleado (sensibilidad) (tablas 1 y 2). Se probó el menstreo de alcohol utilizado para las diluciones aisladamente y se comparó con el control negativo para asegurar que no interfería en el ELISA y se comportó como un control negativo; además, el cálculo del porcentaje al cual quedó después de preparadas las mezclas fue muy bajo (0,32 y 0,71) para el *Hypericum fasciculatum* y *stypelioides* respectivamente, por lo que se dedujo que el alcohol no influyó en la disminución de la antigenicidad obtenida en los ensayos.

**TABLA 1.** Concentración de antígeno. *Hypericum fasciculatum*

Mg/mL	Horas			Días		
	24	48	72	7	14	21
1	10,19	1,46	0	0	0	0
5	7,33	1,49	0	0	0	0
10	7,89	5,36	0	0	0	0
20	0,85	1,97	0	0	0	0
30	0,75	1,76	0	0	0,46	0

uds=µg/mL

**TABLA 2.** Concentración de antígeno. *Hypericum stypelioides*

Mg/mL	Horas			Días		
	24	48	72	7	14	21
1	6,91	5,39	0	0	0	0
5	3,87	4,33	0	0	0	0
10	4,31	2,43	0	0	0	0
20	1,96	0,79	0	0	0,41	0
30	1,13	2,02	0	0	0	0

uds=µg/mL

## Discusión

Se han estudiado algunas propiedades inmunotrópicas que quizás estén relacionadas con sus efectos antivirales; se sabe que todas las sustancias activas de la planta se agrupan en 2

fracciones, la polyfenol y la lipofílica que antagoniza con la anterior aumentando la respuesta inmune celular y humoral por estimulación del sistema fagocítico mononuclear.<sup>3</sup> También se ha estudiado *in vitro* la modulación de citoquinas que produce, específicamente mantiene los niveles de IL-6 estables en comparación con los de IL-1 e IFN gamma.<sup>4</sup> Algunos autores han estudiado la potente actividad antirretroviral de la hypericina y de la pseudohypericina *in vitro* y se sabe que inactiva directamente el virus inhibiendo su replicación viral y evita el ensamblaje del mismo en la membrana celular;<sup>2</sup> también puede inhibir la fosforilación que involucra la proteína quinasa C durante la infección viral de las células,<sup>5</sup> puede que algunos de estos mecanismos justifique los resultados obtenidos en este trabajo ya que el virus de la hepatitis B es un retrovirus, aunque se debe aclarar que hasta el momento la hypericina y la pseudohypericina no tienen actividad directa aparente en los mecanismos que involucran la transcripción y la traducción de las proteínas virales y tampoco sobre la polimerasa.

Los autores de este trabajo coinciden con *Mattias Lorenz* y *Fernando Rodríguez* que plantean que por el alto valor terapéutico y que por sus escasos efectos secundarios, el *Hypericum* está llamado a ocupar un elevado lugar en el futuro como materia prima en la elaboración de fármacos (Santiago, SepT 4/98. Notimex) y quizás su estudio permitirá la utilización de esta planta como herramienta terapéutica contra enfermedades producidas por retrovirus como el VIH. Por todo ello se puede plantear que este estudio *in vitro* demostró la potente actividad antiviral de estas especies de *Hypericum*.

## Referencias bibliográficas

1. Orturk Y. Testing antidepressant effects of *Hypericum* species on animal models. *Pharmapsychiatry* 1997;30:125-8.
2. Meruelo D, Javie G, Javie D. Therapeutic agents with dramatic antiretroviral activity and little toxicity at effective dose 4 aromatic polycyclic diones hypericin and pseudohypericin. *Proc Nat* 1998;85 (14):5230-4.
3. Evstifeeva AT, Sibiriak SV. The immunotropic properties of biologically active product obtained from Klamath weed (*Hypericum perforatum* L.). *KKSP-Klin-Farmakol* 1996;59(11):51-4.
4. Thielle B, Brink I, Plovch M. Modulation of cytokine expression by hypericum extract. *J Geriatr Psychiatry Neurol* 1994;(1):360-2.
5. Takahashi L, Nakanishi SK, Obajoshi E, Nakano H, Suzuki K, Tamaoki T. Hypericin and pseudohypericin specifically inhibit protein Kinase C, possible relation to their antiretroviral activity. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;165 (3):1207-12.

Recibido: 19 de marzo de 2002. Aprobado: 7 de junio de 2002.  
Dra. *Edelis Castellanos Puerto*. Hospital Militar «Dr. Luis Díaz Soto». Ave. Monumental y Carretera del Asilo. Ciudad de La Habana, CP 11700, Cuba. E-mail: ismm@infomed.sld.cu