

Investigación de plantas medicinales con técnicas de inhibición enzimática



Armando Cáceres



**Universidad de San Carlos de Guatemala y
Laboratorio de Productos Naturales Farmaya**



**II Congreso Centroamericano de Productos Naturales Medicinales
Comayagua, 21 de junio de 2017**

Búsqueda de actividad biológica por enzimología

- ▣ La búsqueda de blancos in vitro se ha convertido en una forma promisoriosa y económica de buscar actividad farmacológica interesante en productos naturales.**
- ▣ Las plantas medicinales de uso tradicional son una fuente potencial de actividad biológica, que puede demostrarse por procedimientos de inhibición enzimática in vitro.**
- ▣ La actividad de inhibición enzimática in vitro puede predecir con bastante certeza la actividad de un extracto vegetal, puede usarse para fraccionamiento bioguiado y servir de control de calidad de bioactividad en un producto terminado.**
- ▣ La adaptación de los procesos de inhibición enzimática a modelos micrométricos hacen muy conveniente estos procedimientos para laboratorios con condiciones limitadas**

Estrategias para combatir el síndrome metabólico (SM)

- ▣ Los desórdenes en el procesamiento de los CHO pueden causar severos problemas de salud, como la diabetes, obesidad, hiperuricemia y otros síntomas del SM.**
- ▣ La pandemia de SM que afecta una buena parte de la población mundial obliga a buscar en la naturaleza medicamentos y alimentos que contribuyan a combatir este enorme flagelo.**
- ▣ Una de las estrategias es la búsqueda de especies vegetales que tengan actividad inhibidora de procesos enzimáticos asociados con el SM, particularmente el manejo de CHO (α -amilasa), glucosa (α -glucosidasa) y ácido úrico (xantina oxidasa).**
- ▣ Otros procesos de inhibición enzimática de interés en la búsqueda de nuevos medicamentos son: acetilcolinesterasa (demencia), ureasa (infección) y tirosinasa (aclaramiento de la piel).**

Características de la α -amilasa y su inhibición

α A

- ▣ La α -amilasa es importante en la digestión de almidones y reduce los niveles de azúcar postprandial.
- ▣ Peso molecular 57.6 kDa, contiene Ca, 512 aminoácidos.
- ▣ La α -amilasa salivar y pancreática tienen similitud del 97% en la secuencia de aminoácidos de la molécula general y 92% en los dominios catalíticos.
- ▣ Se han estudiado unas 800 plantas con actividad inhibidora de la α -amilasa.
- ▣ Las moléculas responsables son alcaloides, glicósidos, galactomananos, polisacáridos, esteroides, glucopépticos y terpenoides.
- ▣ Se han realizado muchos estudios de tamizaje de la actividad inhibitoria in vitro, pero pocos estudios han confirmado esta actividad en modelos experimentales y mucho menos en ensayos clínicos.

Ulbricht et al. J Diet Supp 2010; 7:78; Etxeberría et al. Expert Opin Ther Targets 2012; 16:269; Sales et al. J Phar Pharmaceut Sci 2012; 15:141.

Metodologías para demostrar la actividad α -amilasa

▣ **Tamizaje.** La cromatografía en capa fina ha demostrado ser rápida, económica, específica y masificable para el tamizaje cualitativo de la actividad inhibitoria de α -amilasa.

Sonkamble et al. Sci Res Rept 2014; 4:85; Gligorijevic et al. J Serb Chem Soc 2014; 79:411

▣ **Procedimiento estándar.** Inhibición cinética cromogénica según Bernfeld (1955) de α -amilasa de páncreas de cerdo. Se han propuesto varias modificaciones para mejorar los procedimientos y lograr resultados confiables, reproducibles y robustos, usando longitud de onda de 405-540 nm y ecuaciones sencillas para calcular el efecto inhibitorio.

Bernfeld – Amylases alfa and beta. In: Colowick & Kaplan. *Methods in Enzimology* 1:149; El-Bashbishy & Nahashwan. Toxicol Ind Health 2012; 18:42; Boaduo et al. Pharm Biol 2014; 52:756

▣ **Electroforesis capilar.** Ha demostrado ser un método confiable para la detección primaria de la actividad, lográndose resultados equivalentes a los obtenidos por el método estándar de colorimetría

Hamdan & Afifi. Saudi Pharmaceut J 2010; 18:91

Inhibición de α -amilasa en especies vegetales

Procedencia de especies	Principales especies con actividad	Referencias
17 especies usadas en Alemania	<i>Camellia sinensis</i> , <i>Rosarinus officinalis</i> , <i>Tamarindus indica</i> , <i>Vaccinium myrtillus</i>	Funke & Melzing. Rev Bras Farmacog 2006; 16:1
11 especies usadas en medicina Ayurveda	<i>Syzygium cumini</i> , <i>Psidium guajava</i>	Karthic et al. Indian J Exp Biol 2008; 46:677
9 especies de uso popular en Líbano	<i>Salvia acetabulosa</i> , <i>Marrubium radiatum</i>	Loizzo et al. J Ethnopharmacol 2008; 119:109
26 especies de uso popular en Perú	<i>Peumus boldus</i> , <i>Cinnamomum zylanicum</i> , <i>Uncaria tomentosa</i>	Galvez et al. Biores Technol 2010; 101:4676
50 especies de uso popular en Jordania	<i>Aesculus hippocastanum</i> , <i>Aloe vera</i> , <i>Geranium robertianum</i>	Hamdan & Afifi. Saudi Pharmaceut J 2010; 18:91
Revisión 63 especies usadas en el mundo	<i>Olea europea</i> , <i>Castanea sativa</i> , <i>Allium cepa</i> , <i>S. acetabulosa</i> , <i>Ocimum basilicum</i>	Etxeberría et al. Expert Opin Ther Targets 2012; 16:269;
6 especies de uso popular en Sud Africa	<i>Cymbopogon citratus</i> , <i>Cinnamomum cassia</i>	Boaduo et al. Pharm Biol 2014; 52:756
18 especies de uso popular en Vietnam	<i>Ficus racemosa</i> , <i>Kandelia candel</i>	Binh et al. J Ethnopharmacol 2016; 186:189.

Especies con actividad inhibitoria de la α -amilasa

Especie	Principales resultados	Referencias
<i>Phyllanthus amarus</i>	Actividad en el extracto hexánico (ácidos oleanólico y ursólico)	Hasenah et al. J Ethnopharmacol 2006; 107:449
<i>Syzygium cumini</i>	Actividad por ácido betulínico y 3,5,7,4'tetrahidroxi flavona	Karthic et al. Ind J Exp Biol 2008; 46:677
<i>Psidium guajava</i>	Actividad en el extracto butanólico (kaempferol, guayaverina, hiperina)	Wang et al. Food Chem 2010; 123:6.
<i>Ocimum basilicum</i>	La inhibición de α -amilasa guarda relación con los niveles de DPPH	El-Beshbishy & Bahashwan. Toxicol Ind Health 2012; 28:42
<i>Telfairia occidentalis</i>	Extracto etanólico reduce el Fe^{3+} e \downarrow α -amilasa; el escaldado \downarrow la actividad anti-enzimática	Oboh et al. Asian Pacif J Trop Biomed 2012; 2012:733.
<i>Carex baccans</i>	Actividad por (+)- α -viniferina y smiglacidos A y B	Kumar et al. J Funct Foods 2013; 5:211.
<i>Tinospora crispa</i>	Actividad en borapetósido C, 4-hidroxibenzaldehído y lisicamina	Hamid et al. J Funct Foods 2015; 16:74
<i>Zea mays</i>	Estigmas activos por mecanismo competitivo y no competitivo	Sabiu et al. J Ethnopharmacol 2016; 183:1

Características de la α -glucosidasa y su inhibición

α G

- ▣ La α -glucosidasa es una exo enzima que hidroliza los CHO liberando α -glucosa de las terminales no reductoras.
- ▣ Inhibir α -glucosidasa \downarrow la escisión de oligosacáridos, relegando su digestión al final del intestino, lo que hace mas lento el \uparrow de glucosa en sangre.
- ▣ Los principales inhibidores son polifenoles (flavonoides) y alcaloides. Entre los más conocidos están acarbosa y miglitol, aislados de fuentes naturales.
- ▣ La inhibición de α -glucosidasa ha sido estudiada en unas 400 plantas medicinales y alimenticias.
- ▣ Se recomienda usar enzimas de origen animal para obtener datos de relevancia para humanos.
- ▣ Las moléculas responsables pertenecen a compuestos como glucomiméticos, chalconas, polifenoles (flavonoides y taninos), xantonas, ciclitoles, alcaloides, terpenoides, curcuminoides, antraquinonas, poliacetilenos, stilbenos y bromofenoles.

Metodologías para demostrar la actividad α -glucosidasa

▣ **Tamizaje.** La bioautografía por capa fina ha demostrado ser rápida, económica y específica para tamizar cualitativamente la actividad inhibitoria de α -glucosidasa.

Gu et al. J Chromatog A 2015; 1411:116.

▣ **Procedimiento estándar.** Inhibición cinética cromogénica según Nishioka et al. (1998) de α -glucosidasa de intestino de rata. Varias modificaciones se han propuesto para mejorar los procedimientos y lograr resultados confiables y reproducibles; el porcentaje de conversión de sucrosa a glucosa se determina en el sobrenadante filtrado por un método comercial de glucosa oxidasa.

Nishioka et al. J Nat Prod 1998; 61:1413;
Boaduo et al. Pharm Biol 2014; 52:756.

▣ **Bioensayo HPLC-NMP.** Es un excelente método de tamizaje y cuantificación al acoplar el bioensayo colorimétrico a HPLC-SPE-NMR

Schmidt et al. Food Chem 2012; 135:1692.

Inhibición de α -glucosidasa por especies vegetales

Procedencia	Principales especies con actividad	Referencias
Revisión de 51 especies evaluadas	Múltiples moléculas bioactivas se han aislado	Kumar et al. Pharmacog Rev 2011; 5:19
38 especies de uso popular en México	<i>Hintonia latiflora</i> , <i>H. standleyana</i> , <i>Ligusticum porter</i> , <i>Brickellia cavanillesii</i>	Mata et al. J Nat Prod 2013; 76:468.
6 especies de uso popular en Sud Africa	<i>Cymbopogon citratus</i> , <i>Cinnamomum cassia</i>	Boaduo et al. Pharm Biol 2014; 52:756.
Revisión de 13 familias químicas	Flavonoides, xantonas, alcaloides, curcuminoides presentan promisoría actividad	Ghani. Eur J Med Chem 2015; 103:133.
Revisión de 50 especies	Todas presentaron una $CI_{50} < 500 \mu\text{g/ml}$ y actividad antioxidante	Shori. J Int Med 2015; 13:297
18 especies de uso en Indonesia y Japón	<i>Mallotus japonicus</i> , <i>Quercus phillyraeoides</i>	Indrianingsih et al. Procedia Env Sci 2015; 28:639.
18 especies de uso popular en Vietnam	<i>Nepentes mirabilis</i> , <i>Phyllanthus urinaria</i> , <i>Kandelia candel</i>	Binh et al. J Ethnopharmacol 2016; 186:189.

Plantas con actividad inhibidora de α -glucosidasa

Especie	Principales resultados	Referencias
<i>Lagerstroemia speciosa</i>	De seis triterpenos, ácido corosólico demostró la mejor actividad inhibitoria	Hon et al. (2009) <i>Phytother Res</i> 2009; 23:614
<i>Ocimum basilicum</i>	El mecanismo de acción del extracto es por inhibición enzimática y antioxidante	El-Beshbishy & Bahashwan. <i>Toxicol Indus Health</i> 2012; 28:42
<i>Malus x domestica</i>	La quercetina aislada demostró actividad inhibitoria por bioensayo acoplado a HPLC	Schmidt et al. <i>Food Chem</i> 2012; 135:1692
<i>Tinospora crispa</i>	Se aisló borapeptósido C como inhibidor de α -glucosidasa y α -amilasa	Hamid et al. <i>J Funct Foods</i> 2015; 16:74
<i>Embelia ribes</i>	Se aisló embelamida y moléculas conocidas con actividad inhibitoria	Dang et al. <i>Fitoterapia</i> 2015; 100:201
<i>Euphorbia hirta</i>	Flavonoides prenilados son inhibidores por vía competitiva y no competitiva	Sheliya et al. <i>J Ethnopharmacol</i> 2015; 176:1
<i>Centella asiatica</i>	Actividad antioxidante e inhibidora de α -glucosidasa	Dewi & Maryani. <i>Procedia Chem</i> 2015; 17:147.
<i>Zea mays</i> (estigmas)	Mecanismo competitivo de inhibición enzimática	Sabiu et al. <i>J Ethnopharmacol</i> 2016; 183:1.
<i>Morella rubra</i>	Acción por flavonoides del fruto	Yan et al. <i>Molecules</i> 2016; 21:1148

Características de xantina oxidasa e inhibición

XO

- ▣ La catálisis de la xantina conduce a la acumulación de ácido úrico [xantina + O₂ + H₂O → urato + H₂O₂]
- ▣ Se encuentra presente en el hígado e intestino de mamíferos.
- ▣ Su modo de acción se relaciona con los radicales superóxido
- ▣ XO también participa en otros procesos metabólicos y patológicos (CV, inflamación).
- ▣ El alopurinol se prescribe en el tratamiento de gota, por ser un inhibidor competitivo de la XO.
- ▣ La actividad IXO ha sido estudiada en unas 300 plantas de uso en reumatismo y gota.
- ▣ Las moléculas responsables son flavonoides (mircetina, baicaleina, quercetina, kaempferol, crisina, galangina, scutelareina, acaceina, luteolina, apigenina, crisoeriol), chalconas y proantocianidinas.
- ▣ Algunos flavonoides (genisteína, apigenina, quercetina, rutina) no poseen actividad IXO in vitro, pero si potente actividad in vivo.

Metodologías para demostrar actividad IXO

▣ **Tamizaje.** La bioautografía por CCF ha demostrado ser rápida, económica y específica para tamizar cualitativamente la actividad IXO, detectada por la reacción de radicales superóxido con nitroazul de tetrazolio.

Marston et al. Phytochem Anal 2002; 13:51; Ramallo et al. Phytochem Anal 2006; 17:15.; Dewanjee et al. J Pharm Anal 2015

▣ **Procedimiento estándar.** Inhibición cinética cromogénica según Kong et al. (2000) y Sweeney et al. (2001) de XO de leche de vaca (EC 1.1.3.22) evaluado espectrofotométricamente a 295 nm.

Kong et al. J Ethnopharmacol 2000; 73:199; Sweeney et al. J Ethnopharmacol 2001; 75:273.

▣ **Biosensor amperométrico.** Es un método simple y sensible de inmovilización de xantina oxidasa en la superficie de azul de Prusia y determinación amperométrica y voltamétrica.

El Harrar & Amine. Enz Microb Technol 2016; 85:57

Tamizaje de especies vegetales con actividad IXO

Procedencia	Principales especies con actividad (CI ₅₀)	Referencias
26 especies de uso en Norteamérica	<i>Larix latricina</i> , <i>Achillea millefolium</i> , <i>P. balsamifera</i>	Owen & Johns. J Ethnopharmacol 1999; 64:149
122 especies de uso en China	<i>Cinnamomum cassia</i> , <i>Chrysanthemum indicum</i> , <i>Lycopus europaeus</i> (18-26 µg/mL)	Kong et al. J Ethnopharmacol 2000; 73:199
5 especies de <i>Lychnophora</i> de Brasil	<i>L. trichiocarpa</i> y <i>L. ericopides</i> (6-8 µg/mL)	Ferraz Filha et al. J Ethnopharmacol 2006; 107:79
27 especies de uso en la República Checa	<i>Populus nigra</i> , <i>Betula pendula</i> (8-25 µg/mL)	Havlik et al. J Ethnopharmacol 2010; 132:461
3 especies de uso tradicional en Taiwan	<i>Euonymus laxiflorus</i> , <i>Rubia lanceolata</i> , <i>Gardenia jasminoides</i> (in vitro e in vivo)	Liu et al. Food Chem Toxicol 2014; 70:179
10 Leguminosas de Filipinas	<i>Caesalpinia pulcherrima</i> y <i>Saraca thaipingensis</i>	Argulla & Chichioco-Hernández. Asian Pac J Trop Dis 2015; 4:438.
13 especies de uso en Marruecos	Extracto acuoso de <i>Mentha spicata</i> y <i>Melissa officinalis</i>	El Harrad & Amine. Enz Microb Technol 2016;85:57

Confirmación de especies vegetales con actividad IXO

Especie	Principales resultados	Referencias
<i>Lagerstroemia speciosa</i> (Hj)	Se aislaron como activos la dilactona del ácido valoneico (superior a allopurinol) y ácido eláxico	Unno et al. J Ethnopharmacol 2004; 93:391.
<i>Cinnamomum cassia</i> (Cz)	↑ de xantina oxidasa (124%) y ↓ (-44%) de xantina dehidrogenasa	Azab et al. Ecotoxicol Environ Safety 2011; 74:2324.
	Extracto metanólico inhibe XO, se aislaron como activos glicósidos fenólicos (cinnacasolidos A-C)	Ngoc et al. Bioorg Med Chem Lett 2012; 22:4625.
<i>Hibiscus sabdariffa</i> (Cx)	El extracto reduce ácido úrico en modelos animales por ↑ de uricasa, pero no por inhibición de XO	Kuo et al. J Funct Foods 2012; 4:375
<i>Jatropha isabellei</i> (Rz)	Inhibición de XO in vitro, analgesia y antiinflamatoria en un modelo de gota inducido en rata	Silva et al. J Ethnopharmacol 2013; 145:205.
<i>Zingiber officinale</i> (Rz)	Los extractos y compuestos (6 gingerol, 6-shogaol, 6-paradol) inhibieron 85% de XO	Nile & Park. Ind Crops Prod 2015; 70:238.
<i>Tetrapleura tetraptera</i> (Fr)	Actividad atribuida a compuestos fenólicos y flavonoides	Ironi et al. Food Sci Hum Well 2016; 5:17.

Acetilcolina, significado, inhibición y detección

AC

- ▣ Acetilcolina (AC), neurotransmisor de la actividad sináptica.
- ▣ Inhibida por acetilcolinesterasa (ACE), enzima de los tejidos nerviosos y los eritrocitos que hidroliza a la AC.
- ▣ Demencia es la pérdida progresiva de memoria por disminución de los niveles de AC y aumento de la ACE.
- ▣ Se busca actividad inhibitoria de ACE para aumento de AC

Ling & Bochu. Pharmazie 2014; 69:243;
Kostić et al. J Chem 2015; 2015:294858;
Hofmann et al. Bioorg Med Chem 2016; 24:578.

- ▣ **Tamizaje.** Por bioautografía en TLC y Fast Blue B.

Yang et al. J Sep Sci 2009; 32:3257.

- ▣ **Cuantificación.** Método microcolorimétrico según Ellmann et al. (1961)

Adsersen et al. J Ethnopharmacol 2006; 104:418

- ▣ **Confirmación.** Modelo in vivo por cuantificación de ACE en cerebro de ratón comparado con animales control

Konrath et al. J Ethnopharmacol 2012; 139:58

Tamizaje de especies vegetales con actividad IACE

Procedencia	Principales especies con actividad (CI ₅₀)	Referencias
7 especies de uso en Corea	<i>Acorus calamus</i> , <i>Epimedium koreanum</i> (200 µg/mL)	Oh et al. Phytomedicine 2004; 11:544.
40 especies de uso en Colombia	Extractos de Solanaceae (<i>S. deflexiflorum</i> , <i>S. leucocarpum</i> , <i>Witheringia coccoloboides</i>)	Mosquera et al. Scientia Tech 2004; 10(26):155.
11 especies de uso en Dinamarca	<i>Corysalis spp</i> , <i>Lavandula angustifolia</i> , <i>Menha spicata</i> , <i>Rosmarinus officinalis</i>	Adsersen et al. J Ethnopharmacol 2006; 104:418.
5 especies de uso en Portugal	<i>R. officinalis</i> , particularmente el aceite esencial	Mata et al. Food Chem 2007; 103:778.
73 especies de uso en Argentina	<i>Achyrocline tomentosa</i> , <i>Eupatorium viscidum</i> , <i>Ruprechtia apetala</i>	Carpinella et al. Phytother Res 2010; 24:259.
40 especies de uso en Irán	<i>Peganum harmala</i> , responsabilizándose a la harmalina y harmina (41-95 µg/mL)	Adhami et al. Phytother Res 2011; 25:1148
18 especies de uso en Brasil	<i>Ipomoea asarifolia</i> , <i>Jatropha curcas</i> , <i>J. gossypifolia</i> , <i>Kalanchoe brasiliensis</i> y <i>Senna alata</i> (0.12-016 mg/mL)	Feitosa et al. Braz J Biol 2011; 71:783.

Confirmación de especies vegetales con actividad IACE

Espece	Principales resultados (CI ₅₀)	Referencias
<i>Camellia sinensis</i>	Actividad IACE e inhibitori de butirilcolinesterasa (IBCE) (0.03-0.05 mg/mL), prevención de β-amiloidosis	Okello et al. Phytother Res 2004; 18:624.
<i>Eucalyptus globulus</i>	Aceite esencial comercial fue efectivo, pero sus constituyentes (1,8-cineol y limoneno) no fueron activos	Aazza et al. Molecules 2011; 16:7672.
<i>Cichorium intybus</i>	Actividad IACE in vitro, aislamiento de lactonas sesquiterpénicas (8-deoxilactucina y lactucopicrina)	Rollinger et al. Corr Drug Disc Technol 2005; 2:185.
<i>Zephyranthes grandiflora</i>	Se identificaron siete alcaloides de las Amaryllidaceae con actividad IACE e IBCE (39 μg/mL)	Cahliková et al. Braz J Pharmacog 2011; 21:575
<i>Mentha spp.</i>	<i>M. piperita</i> , <i>M. spicata</i> y <i>M. pulegium</i> y compuestos (ácido rosmarínico, eriocitrina y eriodictiol) son IACE sin modificación por la acción gastrointestinal	Dinis et al. Eur J Med Plants 2013; 3:381.
<i>Rauvolfia reflexa</i>	Actividad IACE e IBCE (0.05 mg/mL), prevención de β-amiloidosis	Fadaeinasab et al. Molecules 2013; 18:3779.

Ureasa, significado, inhibición y detección

U

▣ La urea es producto de catabolismo proteico; la ureasa contiene Ni y se obtiene de semillas de *Canavallia*.

▣ Los principales inhibidores son terpenoides, alcaloides y polifenoles (flavonoides, cumarinas)

▣ Su principal aplicación es inhibiendo la invasión de las mucosas gástricas (*Helicobacter pylori*) y urinaria (*Proteus*).

▣ No genera resistencia bacteriana.

Amtul et al. Curr Med Chem 2002; 9:1323; Kosikowska & Berlicki. Expert Opin Ther Patents 2011; 21:945; Hassan & Zemlička. Arch Pharm Chem Lif Sci 2016; 349:1.

▣ **Tamizaje.** Por bioautografía en TLC desarrollado con urea.

Shi et al. Pharm Biol 2011; 49:752.

▣ **Cuantificación.** Método colorimétrico según Weatherburn (1967) y Tanaka (2003)

Olech et al. Food Chem 2014; 145:154.

▣ **Confirmación.** Actividad antiureasa en cultivos de *H. pylori*

Adeniyi & Anyiam. Phytother Res 2004; 18:358.

Tamizaje de especies vegetales con actividad antiureasa

Procedencia	Principales especies con actividad (CI ₅₀)	Referencias
14 especies de uso en China	<i>Magnolia officinalis</i> y <i>Cassia obtusifolia</i> (6-12 µg/mL)	Shi et al. Pharm Biol 2011; 49:752.
5 especies de uso en Pakistan	<i>Acacia nilotica</i> , <i>Calotropis procera</i> , <i>Adhatoda vasica</i> , <i>Fagonia arabica</i> , <i>Casuarina equisetifolia</i>	Amin et al. Molecules 2013; 18:2135.
3 especies de uso en Rumania	Polifenoles de <i>Geranium robertianum</i> , <i>Helleborus purpurascens</i> , <i>Hyssopus officinale</i>	Paun et al. J Enzyme Inhib Med Chem 2014; 29:28.
6 especies de <i>Allium</i> y <i>Brassica</i>	Los seis jugos inhibieron la ureasa, actividad destruida por el cocimiento	Olech et al. Food Chem 2014; 145:154.
15 especies de uso en India	<i>Acacia nilotica</i> , <i>Emplica officinalis</i> , <i>Psidium guajava</i> , <i>Rosa indica</i> , <i>Terminalia chebula</i>	Bai et al. Pharm Biol 2014; 53:326.
42 especies de uso en República Checa	Seis especies del género <i>Potentilla</i> con presencia de flavonoides y catequina	Hřibová et al. Nat Prod Res 2014; 28:868
15 especies de uso en Irán	<i>Ginkgo biloba</i> , <i>Rhus coriaria</i> , <i>Matricaria inodora</i>	Mahernia et al. Iranian J Pharm Res 2015; 14:943.

Confirmación de especies vegetales antiureasa

Espece	Principales resultados (CI ₅₀)	Referencias
<i>Camellia sinensis</i>	Extractos fermentados y no fermentados inhiben la ureasa por su contenido de polifenoles y catequina	Shoae Hassani et al. Indian J Med Microbiol 2009; 27:30
<i>Hypericum oblongifolium</i>	Moléculas activas: 3,4,5-trihidroxixantona y 1,3,7-trihidroxixantona	Arfan et al. J Enz Inhib Med Chem 2010; 25:296
<i>Corydalis govaniiana</i>	Alcaloides (caseadina, caseamina, protopina) y govaniadina son potentes inhibidores (20 µM)	Shestha et al. Phytochem Lett 2013; 6:228.
<i>Virola betonicifolia</i>	3-metoxidalbergione fue la molécula responsable de la actividad inhibidora de ureasa	Muhammed et al. Molecules 2014; 19:16770.
<i>Pistacia atlántica</i>	Extractos y fracciones inhiben ureasa (19 µg/mL), moléculas activas: transilitgina y dihidroluteolina	Uddin et al. Nat Prod Res 2015;1062378
<i>Berberis jaeschkeana</i>	Los extractos y aislamientos (berberinol) presentaron actividad inhibidora de ureasa y antifúngica	Alamzeb et al. Nat Prod Res 2015:1000321
<i>Andrographis paniculata</i>	Diterpenoides del labdano demostraron actividad inhibidora de <i>H. pylori</i> y antiureasa	Shaikh et al. Phytother Res 2016; 30:412.

Tirosinasa, significado, inhibición y detección

T

- ▣ La tirosinasa es clave en la biosíntesis de melanina, que es el principal pigmento de la piel.
- ▣ Su inhibición tiene importancia clínica y cosmética en las condiciones dérmicas de hiperpigmentación.
- ▣ Los principales compuestos activos vegetales son polifenoles, flavonoides (liquiritina, glabridina), glicósidos (arbutina) y sesquiterpenos (bisabolol)

Leyden et al. J Eur Acad Dermatol Venereol 2011; 25:1140;
Fisk et al. J Am Acad Dermatol 2013;

- ▣ **Tamizaje.** Bioautografía por TLC, control de ácido kojico

Momtaz et al. J Erhnopharmacol 2008; 119:507.

- ▣ **Cuantificación.** Método colorimétrico, lectura a 492 nm, control de ácido kójico

Chiari ert al. Food Chem 2010; 120:10

- ▣ **Confirmación.** Mancha en agar y ensayo fluorescente usando cultivo de células de melanoma esferoidal 3D.

Duarte et al. Braz J Micro 2012;;21;
Lee et al. Biol Pharm Bull 2015; 38:1542.

Tamizaje de especies con actividad antitirosinasa

Procedencia	Principales especies con actividad (CI ₅₀)	Referencias
100 especies de diverso origen usadas en Corea	<i>Chaenomeles speciosa</i> , <i>Dryopteris crassirhizoma</i> , <i>Gastrodia ellata</i> , <i>Glycyrrhiza glabra</i> , <i>Morus alba</i> , <i>Myristica fragrans</i> , <i>Rheum palmatum</i>	Lee et al. Int J Cosm Sci 1997; 19:291.
19 especies nativas del Amazonas	El extracto orgánico de <i>Ruprechtia</i> sp. Y <i>Rapanea parviflora</i> (33-64 mg/mL)	Macrini et al. Braz J Pharm Sci 2009; 45:715.
91 especies nativas de Argentina	<i>Dalea elegans</i> , <i>Lepechinia floribunda</i> , <i>Thalictrum decipiens</i> (1-10 µg/mL)	Chiari et al. Food Chem 2010; 120:10.
15 especies de uso en Bangladesh	<i>Swertia chirata</i> , <i>Piper nigrum</i> , <i>Glycyrrhiza glabra</i> , <i>Piper longum</i> , <i>Ocimum americanum</i>	Khanom et al. Biosci Biotechnol Biochem 2000; 64:1967
5 especies de uso en India	El extracto acuoso de <i>Asparagus racemosa</i> mostró actividad antioxidante y antiureasa	Narayanaswamy et al. Int J PharmTech Res 2011; 3:1107
10 especies de Piper de Guatemala	Extractos de <i>P. variable</i> , <i>P. umbellatum</i> y <i>P. Jacquemontianum</i> (2-4 µg/mL)	Almeda et al. Int J Phytocos Nat Ing 2015; 2:6

Confirmación de especies vegetales antitirosinas

Especie	Principales resultados (CI ₅₀)	Referencias
<i>Piper longum</i>	Demostración in vitro e in vivo de actividad antitirosinasa de piperlonguminina	Kim et al. Pigemnt Cel Res 205; 19:90.
<i>Vitex negundo</i>	Ocho lignanos mostraron actividad antitirosinasa, principalmente (+)-lioniresinol (3.21 μM)	Azhar-ul-Haq et al. Phytomedicine 2006; 13:255.
<i>Muntingia calabura</i>	Extracto hidroetanólico con actividad antitirosinasa y antioxidante; se atribuye a la presencia de polifenoles	Balakrishnan et al. Int J Pharma Bio Sci 2011; 2:B295
<i>Michelia alba</i>	Se aisló (-)-N-formilanonaina por inhibición de tirosinasa fúngica y actividad antioxidante	Wang et al. Bioorg Med Chem 2010; 18:5241
<i>Distylium racemosum</i>	Moléculas activas: flavonoides y derivados de catequina y ácido gálico	Ko et al. Phytother Res 2011; 25:1451.
<i>Tabebuia avellaneda</i>	La molécula responsable de la inhibición de melanogénesis es β-lapachona	Kim et al. Arch Dermatol Res 2015; 307:229
<i>Camellia sinensis</i>	Varias proantocianidinas demostraron potente actividad antitirosinasa	Wei-Song et al. Int J Food Prop 2016; 20:1348