

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

| Espece | 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

| Especie | 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 |