



ORIGINAL

Content of Phenols, Flavonoids and Antihyperuricemic Activity of Leaves And Rhizomes of *Smilax Purhampuy* Ruiz

Contenido de Fenoles, Flavonoides y Actividad Antihiperuricémica de Hojas y Rizomas de *Smilax Purhampuy* Ruiz

Pilar A. Soledispa Cañarte¹  , Raisa Mangas Marín²  , Glenda M. Sarmiento Tomalá¹  , Byron E. Zavala Soledispa³  

¹Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Químicas. Guayaquil, Ecuador.

²Universidad de la Habana, Instituto de Farmacia y Alimentos. Ciudad Habana, Cuba.

³Ministerio de Educación, Unidad de Tecnologías de la Información y Comunicaciones. Guayaquil, Ecuador.

Citar como: Soledispa Cañarte PA, Mangas Marín R, Sarmiento Tomalá GM, Zavala Soledispa BE. Content of Phenols, Flavonoids and Antihyperuricemic Activity of Leaves and Rhizomes of *Smilax Purhampuy* Ruiz. *Salud, Ciencia y Tecnología*. 2024; 4:1037. <https://doi.org/10.56294/saludcyt20241037>

Enviado: 09-03-2024

Revisado: 24-05-2024

Aceptado: 14-07-2024

Publicado: 15-07-2024

Editor: Dr. William Castillo-González 

ABSTRACT

Introduction: *Smilax purhampuy* is traditionally used for the treatment of chronic gastritis, cystitis, arthritis and inflammation of the prostate; however, it lacks scientific studies that support its traditional use.

Objective: To estimate the chemical composition and antihyperuricemic activity of hydroalcoholic extracts from leaves and rhizomes of *S. purhampuy*.

Method: the dry material of leaves and rhizomes of the species was used for the elaboration of the extracts by maceration with 80 % hydroalcoholic solvent. Total phenols were quantified by Folin-Ciocalteu and total flavonoids by the aluminum chloride colorimetric method. Antihyperuricemic activity was evaluated in rats using the potassium oxonate induction model; the extracts were tested at doses of 125, 250 and 400 mg/kg and allopurinol 10 mg/kg was used as a positive control. The uric acid content in blood serum was quantified and the enzymatic activity of xanthine oxidase was determined.

Results: in the phytochemical determinations, significant differences were observed in the content of each evaluated metabolite, fundamentally associated with the characteristics of each plant organ. The highest content of phenols (4,08 mg EAG/g) and flavonoids (1,01 mg EQ/g) was found in the leaf extract. The extracts of leaves and rhizomes showed a significant decrease in the levels of uric acid in blood serum (156,31 $\mu\text{mol/L}$ y 167,58 $\mu\text{mol/L}$, respectively) and in the activity of the enzyme xanthine oxidase at all doses tested, being more marked in the extract of leaves at 400 mg/kg.

Conclusions: the results provide the first findings of the antihyperuricemic potential of the species and make an important contribution to the knowledge of its chemical composition.

Keywords: *Smilax Purhampuy*; Phenols; Flavonoids; Uric Acid; Xanthine Oxidase.

RESUMEN

Introducción: *Smilax purhampuy* se emplea tradicionalmente para el tratamiento de la gastritis crónica, cistitis, artritis e inflamación de la próstata; sin embargo, adolece de estudios científicos que sustenten su uso tradicional.

Objetivo: estimar la composición química y la actividad antihiperuricémica de extractos hidroalcohólicos de hojas y rizomas de *S. purhampuy*.

Método: el material seco de hojas y rizomas de la especie se utilizó para la elaboración de extractos por maceración con disolvente hidroalcohólico al 80 %. Se cuantificaron los fenoles totales por Folin-Ciocalteu

y flavonoides totales por el método colorimétrico del cloruro de aluminio. Se evaluó la actividad antihiperuricémica en ratas mediante el modelo de inducción con oxonato de potasio; los extractos se ensayaron a las dosis de 125, 250 y 400 mg/kg de peso corporal (p.c) y el alopurinol 10 mg/kg p.c se utilizó como control positivo. Se cuantificó el contenido de ácido úrico en suero sanguíneo y se determinó la actividad enzimática de la xantina oxidasa.

Resultados: en las determinaciones fitoquímicas se percibieron diferencias significativas en la concentración de cada metabolito evaluado, asociadas, fundamentalmente, a las características propias de cada órgano vegetal. El mayor contenido de fenoles (4,08 mg EAG/g) y flavonoides (1,01 mg EQ/g) fue para el extracto de hojas. Los extractos de hojas y rizomas mostraron una disminución significativa en los niveles de ácido úrico en suero sanguíneo (156,31 $\mu\text{mol/L}$ y 167,58 $\mu\text{mol/L}$, respectivamente) y en la actividad de la enzima xantina oxidasa a todas las dosis ensayadas, siendo más marcado en el extracto de hojas a 400 mg/kg.

Conclusiones: los resultados brindan los primeros hallazgos del potencial antihiperuricemiante de la especie y hacen una contribución importante al conocimiento de su composición química.

Palabras clave: *Smilax Purhampuy*, Fenoles, Flavonoides, Ácido Úrico, Xantina Oxidasa.

INTRODUCCIÓN

La hiperuricemia es una anomalía en los niveles elevados de ácido úrico en la sangre.^(1,2) La xantina oxidasa (XO) es la enzima clave responsable de la producción de ácido úrico por catálisis, la hipoxantina en xantina y la xantina a su vez en ácido úrico.^(2,3)

El ácido úrico es el producto final del metabolismo de las bases nitrogenadas púricas en el cuerpo humano. En la mayoría de los animales, es degradado por la enzima hepática urato oxidasa (uricasa) para generar alantoina, la cual es excretada libremente en la orina.⁽⁴⁾ El aumento de la concentración sérica de ácido úrico es la condición esencial que conduce al desarrollo de la artritis gotosa, que puede causar inflamación y ser dolorosa para los pacientes que padecen esta enfermedad.⁽¹⁾

Las estrategias para tratar la gota y la hiperuricemia implican el uso de un inhibidor de la xantina oxidasa para reducir la producción de urato o el uso de un agente uricosúrico para aumentar la excreción de ácido úrico.⁽¹⁾

Existen dos fármacos capaces de inhibir esta enzima, el alopurinol y el febuxostat. El febuxostat, debido a que posee un metabolismo esencialmente hepático, es una opción para los pacientes con enfermedades renales crónicas. Sin embargo, puede provocar alteraciones en las pruebas de función hepática, efectos cardiovasculares indeseables y tiene un coste elevado. Por tanto, el alopurinol es la terapia de elección porque es eficaz en aproximadamente el 90 % de los pacientes, se administra en una sola dosis diaria, aunque los efectos adversos pueden ocurrir en el 20 % de los pacientes y se caracterizan por intolerancia gastrointestinal, náuseas, erupción cutánea, fiebre, hepatitis e insuficiencia renal progresiva.^(1,5)

Sin embargo, debido a los efectos negativos de estos inhibidores de XO, se desean nuevos productos naturales alternativos preparados para un consumo más seguro, como las plantas medicinales, las cuales producen muchos metabolitos que tributan a la actividad antihiperuricémica.⁽¹⁾

El género *Smilax* (Smilacaceae) con más de 350 especies de plantas constituye una fuente prometedora para el tamizaje de la actividad inhibidora de XO y efectos terapéuticos de la enfermedad de la gota.⁽⁶⁾ Los estudios fitoquímicos revelaron la presencia de saponinas, compuestos fenólicos (flavonoides, taninos, ácidos fenólicos), alcaloides y fenilpropanoides glucósidos que tributan a dicha actividad. De esta forma, compuestos con propiedades antiinflamatorias además de actividades antioxidantes y antiartríticas fueron aisladas de este género, entre ellos *Smilaxchinosido A-D*, *Sieboldogenin* y *Astilbin*.^(7,8)

Smilax purhampuy Ruiz, es originaria de la región amazónica, se distribuye a lo largo del Ecuador, Perú, Nicaragua, Colombia, Bolivia, Costa Rica, Venezuela, Honduras y Brasil.⁽⁹⁾ La planta se usa tradicionalmente para mitigar la artritis e inflamación, la gastritis crónica, cistitis y para bajar el colesterol y los triglicéridos.⁽¹⁰⁾ Estudios recientes demostraron la eficacia antiinflamatoria de extractos hidroalcohólicos de hojas y rizomas sobre el modelo de inflamación aguda inducida por carragenina, así como la presencia de compuestos fenólicos y triterpenoides.⁽¹¹⁾ No obstante, la información fitoquímica es escasa y no existen antecedentes de estudios que avalen su uso tradicional en el tratamiento de la gota. Por lo tanto, se requiere de evidencias científicas que permitan continuar enriqueciendo el conocimiento de esta planta, para lo cual se concibe como objetivo del trabajo estimar la composición química y la actividad antihiperuricémica de extractos hidroalcohólicos de hojas y rizomas de *S. purhampuy*.

MÉTODO

Material vegetal

Espécimen de *S. purhampuy* Ruiz en estado fenológico de fructificación fueron recolectados en la provincia

Francisco de Orellana en Ecuador en los meses de mayo y abril de 2019. Una parte de los ejemplares se depositaron en el herbario GUAY de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil donde se realizó la caracterización taxonómica y se asignó el código de identificación 13,117. También se llevó a cabo la caracterización genética de la especie.⁽¹²⁾

De las colectas se emplearon las hojas y rizomas, los cuales fueron lavados con agua potable y secados en estufa marca Mettler Toledo (Alemania) a 40 °C, hasta peso constante. Una vez secas, las muestras se trituraron con el empleo de un molino artesanal manual de cuchillas y se almacenaron en frascos de cristal ámbar^(11,12), mismas muestras que son utilizadas para el presente estudio experimental.

Preparación de los extractos

Se elaboraron extractos hidroalcohólicos al 80 % por maceración, por siete días, a una temperatura de 30 ± 2 °C, con agitación esporádica,^(13,14) a partir de hojas y rizomas de *S. purhampuy*, a razón de 20 g de droga /100 mL de disolvente. Para el ensayo biológico los extractos se concentraron bajo presión reducida en un rotoevaporador (IKA, China) a 40 °C y resuspendieron en carboximetilcelulosa (Sigma Aldrich) al 0,5 %.

Análisis fitoquímico

Contenido de fenoles y flavonoides totales

A los extractos de hojas y rizomas de *S. purhampuy* le fueron determinados el contenido de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu,⁽¹⁵⁾ usando ácido gálico como sustancia de referencia a las concentraciones de 10, 20, 30, 40 y 50 mg/mL. La mezcla de reacción estuvo compuesta por 200 µL de extracto o sustancia de referencia, 10 mL del reactivo Folin-Ciocalteu, 1,8 mL de agua destilada y 8 mL de carbonato de sodio 7,5 %. Después de dos horas se midió la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro (Rayleigh UV-1601, China). El contenido de fenoles totales se expresó en mg equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto seco (mg EAG/g).

Los flavonoides totales se analizaron por el método colorimétrico del cloruro de aluminio.^(16,17) Se utilizó quercetina como sustancia de referencia a las concentraciones de 5, 20, 50, 60 y 80 µg/mL. La mezcla de reacción estuvo conformada por 500 µL de los extractos o sustancia de referencia, 1,5 mL de etanol al 96 %, 0,1 mL de cloruro de aluminio al 10 %, 0,1 mL de 1 M de acetato de potasio y 2,8 mL de agua destilada, se dejó reposar durante 30 minutos y se midió la absorbancia a 415 nm en un espectrofotómetro (Rayleigh UV-1601, China). Los flavonoides totales se expresaron en términos equivalente a miligramos de quercetina por gramo de extracto seco (mg EQ/g).

Actividad antihiperuricémica

El estudio se llevó a cabo mediante el modelo de hiperuricemia en ratas inducido por Oxonato de potasio.^(1,18,19)

Se emplearon ratas machos albinos de la línea Wistar, de ocho semanas de edad, procedentes del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB) con sus correspondientes certificados de calidad que garantizaba la salud de los mismos, encontrándose aptos para efectuar este tipo de ensayo. El peso de las ratas estuvo comprendido entre 190 y 220 g. La temperatura del local fue de 22 ± 1 °C, humedad relativa: 60 % ± 5 %, ciclo de luz/ oscuridad: 12/ 12 h. El agua y la comida fueron suministradas “ad libitum” hasta 24 horas antes del comienzo del ensayo donde solo se les permitió el acceso al agua.

Las ratas se dividieron en nueve grupos de cinco animales cada uno: grupo I- solución salina 0,9 % 10 mL/kg (control sin tratamiento), grupo II- Oxonato de potasio (OP) 250 mg/kg de peso corporal (p.c.) (control hiperuricémico), grupo III- OP y alopurinol (tabletas 100 mg, MEDSOL, Cuba) 10 mg/kg p.c. (control positivo), grupos IV-VI- OP y extracto hojas (Ext-H) de *S. purhampuy* en dosis de 125, 250 y 400 mg/kg p.c., respectivamente, grupos VII-IX- OP y extractos de rizomas (Ext-R) de *S. purhampuy* 125, 250 y 400 mg/kg p.c., respectivamente. Excepto el alopurinol que fue aplicado por inyección intraperitoneal, los extractos y el fármaco se administraron oralmente. Los animales se anestesiaron con éter dietílico. Después se tomaron las muestras de sangre de la vena de la cola de las ratas 1 h después de la administración final.

Durante todo el trabajo experimental se acataron las normas éticas para el manejo de animales de laboratorio, siguiendo lo establecido en los procedimientos normalizados de operación (PNO) vigentes en el Centro de Estudios para las Investigaciones y Evaluaciones Biológicas del Instituto de Farmacia y Alimentos de La Universidad de La Habana. Para realizar la eutanasia, se sometieron a las ratas en una atmósfera saturada de éter, teniendo siempre en cuenta las técnicas de refinamiento planteadas para realizar los ensayos con animales de experimentación.⁽²⁰⁾

Todos los investigadores respetaron los principios éticos que rigen la experimentación animal, garantizando el bienestar y la protección de los mismos, tanto por la sensibilidad humana ante el sufrimiento animal, como por garantizar la validez de los resultados obtenidos, cumpliéndose con los lineamientos de Bioética y Bioseguridad establecidas para la protección de animales de laboratorio.^(20,21)

Se permitió coagular la sangre durante aproximadamente 1 h a temperatura ambiente y luego se centrifugó

a 3500 rpm (centrífuga G16 marca YINGTAI, China), durante 5 min para obtener el suero, que se almacenó a -20°C hasta su uso.^(18,19)

Inmediatamente después de recolectar la sangre, se extrajo el hígado y se lavó con una solución salina al 0,9 %, luego se pesó 0,5 g (peso húmedo) y se homogeneizaron en 50 mM, pH 7,4 de buffer fosfato de sodio (Merck). Los homogenatos de hígado se centrifugaron a 3000 rpm a 4°C durante 10 min, la fase lipídica fue descartada y el sobrenadante fue centrifugado a 10 000 rpm por 60 min a 4°C . El sobrenadante obtenido de la centrifugación final fue ensayado para determinar la actividad enzimática de la XO.^(1,19) Las variables analizadas fueron el ácido úrico, actividad de la XO, porcentaje de inhibición de la enzima XO y peso corporal de las ratas.

El ácido úrico se cuantificó en muestras de sangre mediante el empleo de un juego de reactivo comercial enzimático colorimétrico (HELFA® Diagnóstico, Cuba) siguiendo las instrucciones del fabricante. La solución de referencia consistió en ácido úrico $357\ \mu\text{mol/L}$. Las determinaciones se realizaron en un espectrofotómetro (RAY LEIGH UV-1601 de procedencia china) a 520 nm. Los valores de concentración de ácido úrico se expresaron en $\mu\text{mol/L}$ y se determinaron antes y después de la inducción de la hiperuricemia, así como después de la administración de los tratamientos (extractos y alopurinol).

La XO se analizó mediante un método cinético.⁽²²⁾ La mezcla de reacción estuvo compuesta por: 2 600 μL de solución amortiguadora Tris-HCl [pH 8,5 (50mM)], 50 μL de la solución de xantina (Sigma-Aldrich), 50 μL de la solución de ácido etilendiaminotetracético (EDTA, Sigma-Aldrich), 100 μL de la muestra y 200 μL de la suspensión de la enzima ureasa (Sigma-Aldrich) 3,5 U/L. Se agitó e incubó 30 min a una temperatura entre $20\text{-}25^{\circ}\text{C}$. Del medio de reacción anterior se tomó 100 μL y se adicionó 1,25 mL del reactivo fenol [150 mmol/L de fenol (Merck) en 100 mL de agua destilada y 0,47 mmol/L de nitroprusiato sódico (Sigma-Aldrich)], 1,25 mL de hipoclorito reactivo [solución al 13 mmol/L de hipoclorito de sodio (Merck)] y 130 mmol/L de NaOH (Sigma-Aldrich), se agitó y dejó en reposo 30 minutos a $20\text{-}25^{\circ}\text{C}$. Posteriormente, se leyó la densidad óptica (D.O) a 620 nm frente a un blanco preparado con 1,25 mL de reactivo de fenol y 1,25 mL de hipoclorito reactivo. El estándar se preparó a partir de 20 μL de solución de urea (Sigma-Aldrich) 400 mg/L y 200 μL de ureasa, y se incubó 30 minutos a $20\text{-}25^{\circ}\text{C}$. Se adicionó 5 mL de fenol reactivo y 5 mL de hipoclorito reactivo dejando reposar nuevamente 30 minutos a la misma temperatura. Finalmente, se leyó la D.O frente al mismo blanco referido anteriormente.

La actividad enzimática se determinó mediante la expresión siguiente:⁽²²⁾

$$\text{AE (mmol/L/min)} = [\text{EM/ES}] \times 33,3$$

Donde:

AE= actividad enzimática; Em= extinción de la muestra; Es= extinción del estándar; 33,3= constante que reúne: dilución de la muestra, tiempo de incubación y concentración del estándar.

El porcentaje de inhibición de la XO se calculó por la expresión siguiente:⁽¹⁹⁾

$$\text{XO Inhibición (\%)} = [(\text{Actividad del control hiperuricémico} - \text{Actividad de los grupos tratados}) / \text{Actividad del control hiperuricémico}] \times 100$$

El peso de los animales, expresado en gramos (g), se determinó a los tiempos 0, 3 y 5 días, en una balanza técnica marca Sartorius (Alemania).

Análisis estadístico

Para la comparación de los resultados correspondientes al contenido de fenoles y flavonoides totales de los dos extractos (hojas y rizomas) se aplicó la prueba de t-Student con significación estadística $p < 0,05$. En el estudio biológico se empleó el análisis de varianza (ANOVA-1) para determinar diferencias entre grupos, seguido de la prueba de Tukey ($p < 0,05$). Los datos obtenidos en cada ensayo se procesaron para calcular los valores medios y desviaciones estándar (DE) y el análisis estadístico se efectuó mediante el paquete SPSS para Windows versión 8.0.

RESULTADOS

Análisis fitoquímico

Contenido de fenoles y flavonoides totales

Los resultados correspondientes a las cuantificaciones de fenoles y flavonoides en los extractos de hojas y rizomas, muestran que las hojas tienen una mayor concentración que los rizomas, tal como se observa en la tabla 1.

Tabla 1. Contenido de fenoles y flavonoides totales en los extractos de hojas y rizomas de *S. purhampuy*

Extractos	Fenoles totales (mg EAG/g)	Flavonoides totales (mg EQ/g)
	D/DS	D/DS
Hojas	4,08/0,05a	1,01/0,04a
Rizomas	3,73/0,18b	0,81/0,03b

Nota: D/DS: valor medio de las determinaciones/desviación estándar (n = 5). Letras diferentes en una columna muestran diferencias significativas (p < 0,05) según t-Student.

Actividad antihiperuricémica

El alopurinol se utilizó en este experimento como medio de comparación con la respuesta de los extractos de *S. purhampuy* a las diferentes dosis. En la tabla 2 se registran las mediciones de ácido úrico antes y después de la inducción de la hiperuricemia, y después de la administración de los extractos y el fármaco de referencia (alopurinol). Demostrando que el extracto de las hojas a 400 mg/kg tuvo una eficacia muy similar al fármaco de referencia.

Tabla 2. Efecto de los extractos de *S. purhampuy* sobre los niveles de ácido úrico en suero sanguíneo

Grupos Antes de la inducción de la hiperuricemia	Niveles de ácido úrico/DE (µmol/L)		
	Después de la inducción de la hiperuricemia	Después de la administración de los tratamientos	
NaCl 0,9 % 10 mL/kg	142,23/12,00 ^a	147,41/10,93 ^b	149,45/10,23 ^s
OP 250 mg/Kg (Hiperuricemia)	143,76/13,11 ^a	241,95/11,95 ^{cf}	280,76/11,29 ^h
OP + Alopurinol 10 mg/kg	142,29/11,41 ^a	241,48/11,12 ^c	147,15/10,72 ^s
OP + Ext-H	125 mg/kg	142,50/12,28 ^a	241,71/13,58 ^c
	250 mg/kg	140,74/11,72 ^a	241,04/12,31 ^c
	400 mg/kg	143,66/13,55 ^a	245,72/13,05 ^e
OP + Ext-R	125 mg/kg	143,02/12,48 ^a	245,00/13,13 ^e
	250 mg/kg	141,43/11,72 ^a	244,92/11,35 ^e
	400 mg/kg	141,53/12,42 ^a	239,46/11,49 ^c

Nota: OP: Oxonato de potasio, Ext-H: extracto de hojas, Ext-R: extracto de rizomas. La tabla 2 muestra la concentración de ácido úrico (µmol/L) de los grupos en función de cinco días de experimento. Los datos fueron expresados como la media /desviación estándar (n = 5). Letras diferentes en una columna muestran diferencias significativas según prueba de Tukey (p<0,05).

Los homogenatos de hígado se cuantificaron para permitir el análisis de la actividad residual de la XO hepática. El Alopurinol inhibió en un 62,33 % la actividad de la XO hepática residual mientras que el extracto de las hojas a 250 mg/kg y 400 mg/kg alcanzaron un 42,09% y 48,39% respectivamente.

Tabla 3. Efecto de los extractos de *S. purhampuy* sobre la actividad de xantina oxidasa en el homogenatos de hígado de las ratas

Grupos	Actividad de XO/DS (mmol/L/min)	% Inhibición
NaCl 0,9 % 10 mL/kg	11,90/0,79 ^a	-
OP 250 mg/Kg (Hiperuricemia)	14,92/0,43 ^b	-
OP + Alopurinol 10 mg/kg	5,62/0,68 ^c	62,33
OP + Ext-H	125 mg/kg	10,57/0,97 ^d
	250 mg/kg	8,64/0,48 ^e
	400 mg/kg	7,70/0,33 ^f
OP + Ext-R	125 mg/kg	10,61/0,87 ^d
	250 mg/kg	9,58/0,38 ^s
	400 mg/kg	9,41/0,70 ^s

Nota: XO: xantina oxidasa, OP: Oxonato de potasio, Ext-H: extracto de hojas, Ext-R: extracto de rizomas. Los datos son expresados como la media/desviación estándar (DS) (n=5). Letras diferentes muestran diferencias significativas según prueba de Tukey (p<0,05).

Otra variable ensayada en el presente estudio fue el peso corporal, el cual no se registraron diferencias

significativas en ningún caso, tal como se muestra en la tabla 4.

Tabla 4. Efecto de la administración oral (cinco días) de los extractos de <i>S. purhampuy</i> sobre el peso corporal en ratas con hiperuricemia inducida por Oxonato de potasio			
Grupos	Peso corporal /DE (g)		
	0	3	5
NaCl 0,9 % 10 mL/kg	191,34/1,18 ^a	191,50/0,70 ^a	192,17/0,69 ^a
OP 250 mg/Kg (Hiperuricemia)	219,17/1,25 ^b	219,23/0,78 ^b	220,25/0,87 ^b
OP + Alopurinol 10 mg/kg	214,22/1,55 ^c	214,94/1,53 ^c	215,63/1,66 ^c
OP + Ext-H	125 mg/kg	215,98/3,12 ^d	216,78/3,52 ^d
	250 mg/kg	203,49/2,38 ^e	204,16/2,24 ^e
	400 mg/kg	215,05/1,70 ^f	216,02/1,44 ^f
OP + Ext-R	125 mg/kg	203,78/2,22 ^g	203,98/2,09 ^g
	250 mg/kg	214,92/2,38 ^h	215,18/2,42 ^h
	400 mg/kg	210,24/0,75 ⁱ	210,70/0,88 ⁱ

Nota: Oxonato de potasio, Ext-H: extracto de hojas, Ext-R: extracto de rizomas. Los datos son expresados como la media/desviación estándar (DS) (n=5). Letras iguales en una fila muestran que no existen diferencias significativas según prueba de Tukey (p<0,05).

DISCUSIÓN

Los compuestos fenólicos, especialmente los flavonoides, están ampliamente distribuidos en casi todas las plantas, constituyen un medio de defensa eficaz contra la agresión patógena y la radiación ultravioleta. Dichos compuestos muestran una gama amplia de propiedades tales como antioxidante, anticancerígeno, antidiabético, cardiovascular, antiinflamatorio, protectores en trastornos neurodegenerativos y otros efectos terapéuticos.^(23,24)

En la presente investigación se cuantificaron los fenoles totales y flavonoides totales por ser metabolitos ampliamente distribuidos en el reino vegetal, así como en el género *Smilax* y familia Smilacaceae,^(7,8) sin embargo, en *S. purhampuy* no han sido cuantificados.

En las determinaciones fitoquímicas se percibieron diferencias significativas en la concentración de cada metabolito evaluado, asociadas, fundamentalmente, a las características propias de cada órgano vegetal. El mayor contenido de fenoles y flavonoides fue para el extracto de hojas.

Al comparar los resultados con los obtenidos para otras especies de *Smilax* se constataron diferencias. Por ejemplo, en un extracto de hojas de *Smilax anceps* se hallaron valores de 0,66 mg EAG/g y 1,34 mg EQ/g de fenoles y flavonoides, respectivamente.⁽²⁵⁾ En el extracto etanólico de hojas de *Smilax brasiliensis* los fenoles y flavonoides oscilaron entre 0,38 mg EAG/g y 0,11 mg EQ/g.⁽²⁶⁾ Por su parte, en extractos acuosos de *Smilax zeylanica* el contenido fenólico varió entre 0,61 y 5,06 mg GAE/g de extracto, y el de flavonoides en un rango de 5,29 a 50,26 QE/g de extracto.⁽²⁷⁾

La concentración de fitoquímicos, especialmente de fenoles y en particular flavonoides está fuertemente influenciado por factores genéticos, factores ecológicos, entre otros. La mayoría de las especies vegetales, aunque sean del mismo género, regulan los tipos y cantidades de metabolitos secundarios de acuerdo con el entorno donde se desarrollan. Por lo tanto, los factores ambientales causan cambios en el crecimiento de las plantas medicinales, así como en la cantidad y calidad de sus ingredientes activos.^(28,29)

Se determinó la actividad antihiperuricémica de los extractos de rizomas y de hojas mediante el modelo de inducción de hiperuricemia con oxonato de potasio, el cual bloquea parcialmente la conversión de ácido úrico a alantoína y, por lo tanto, eleva artificialmente los niveles de ácido úrico en suero para proporcionar un animal hiperuricémico.⁽³⁰⁾ Se ha demostrado que la dosis más usada en roedores es de 250 mg/kg por vía intraperitoneal.^(19, 31,32,33)

El control positivo fue el alopurinol a la dosis de 10 mg/kg, por vía oral, con el que se ha demostrado un buen efecto antihiperuricémico. El fármaco es el uricostático más usado en el tratamiento crónico de la gota^(1,19) que actúa inhibiendo la actividad de la enzima XO y disminuye los niveles de ácido úrico en suero.⁽³²⁾

Se determinó la medición del ácido úrico antes de la inducción hiperuricémica con el objetivo de determinar los niveles normales de ácido úrico que se utilizaron como valor base, observándose valores homogéneos entre los diferentes grupos, entre 140,74 y 143,76 µmol/L. La concentración de ácido úrico está en el rango de valores normales referidos para ratas Wistar machos en estudios efectuados por Oliveira y col.,⁽³⁴⁾ quienes obtuvieron valores de 1,14 a 2,48 mg/dL (67,83 - 147,56 µmol/L); también están en concordancia con los niveles de ácido úrico registrados por Park y col.⁽³³⁾ en un grupo de ratas utilizadas como control normal (141,61 µmol/L).

Luego de la administración de oxonato de potasio, se visualizó un aumento en los valores de ácido úrico de todos los grupos, excepto en el grupo de NaCl. Se logró alcanzar un estado hiperuricémico con valores de 239,46

a 245,72 $\mu\text{mol/L}$, en correspondencia con los estudios de Park y col.,⁽³³⁾ donde se observaron concentraciones de ácido úrico de 243,95 $\mu\text{mol/L}$ para el grupo sometido a hiperuricemia. No se apreciaron complicaciones clínicas ni muertes durante el experimento.

En el análisis de los grupos tratados con alopurinol y los extractos a las diferentes dosis se pudo constatar una disminución significativa en los niveles de ácido úrico respecto al control normal (NaCl). Todos los grupos tratados mostraron un comportamiento estadísticamente diferente entre ellos, siendo el alopurinol el que mostró mayor actividad hipouricémica. Estos resultados están en correspondencia con estudios previos que sugieren que el alopurinol es un potente inhibidor en la inhibición de la actividad de XO. Esta actividad inhibida evita la síntesis de ácido úrico y reduce los niveles de ácido úrico en la sangre.^(33,35)

Por otra parte, todos los extractos también lograron disminuir significativamente los niveles de ácido úrico de manera concentración dependiente, registrándose la mayor actividad antihiperuricémica (menor concentración de ácido úrico) para el extracto de hojas a la dosis de 400 mg/kg. La XO se expresa principalmente en el hígado y es una importante enzima en humanos que juega un papel crucial en la mediación del metabolismo de las purinas. La función principal de XO es convertir hipoxantina en xantina y xantina al ácido úrico.⁽³⁰⁾

El grupo de control hiperuricemiante comparado con el grupo normal mostró la mayor actividad enzimática respecto a los grupos ensayados y en concordancia con la mayor concentración de ácido úrico en suero. Al analizar el efecto de los extractos sobre la actividad de la XO hepática, también se percibió una disminución significativa a medida que aumentaba la concentración de los extractos, observándose a las diferentes dosis valores en el rango de 10,61 a 7,70 mmol/L/min.

El alopurinol se utilizó en este experimento como medio de comparación con la respuesta de los extractos de *S. purhampuy* a las diferentes dosis, el mismo inhibió en un 62,33 % la actividad de la XO hepática residual. Los extractos a todas las dosis ensayadas también fueron capaces de inhibir dicha enzima, siendo el extracto de hojas a la dosis de 400 mg/kg el que exhibió mayor capacidad de inhibición de la XO con un 48,39 %, coherente con la concentración de ácido úrico registrada.

Otra variable ensayada en el presente estudio fue el peso corporal, el cual se ve influenciado por el consumo de agua, alimentos y otras condiciones de tenencia de los animales.⁽³⁶⁾ Su disminución podría considerarse como un indicador de posible daño orgánico.⁽³⁷⁾ En el caso de la investigación realizada, durante los cinco días de ensayos no hubo muertes ni se percibieron diferencias significativas en ninguno de los grupos sometidos al ensayo.

Los experimentos realizados en el presente estudio también permitieron evaluar los mecanismos antihiperuricémicos de los extractos de *S. purhampuy* y determinar según las dosis ensayadas la que ejerce efecto hipouricémico. En este sentido, a la menor dosis evaluada (125 mg/kg), tanto de extracto de hojas como de rizomas, también se promueve una disminución de ácido úrico en suero e inhibición de la actividad de la enzima XO, demostrándose bajo las condiciones ensayadas la actividad antihiperuricémica de los extractos, en correspondencia con el alopurinol, usado como fármaco de referencia, el cual es un agente uricostático.

El género *Smilax* constituye una fuente prometedora para el tamizaje de la actividad inhibidora de XO y efectos terapéuticos de la enfermedad de la gota. Se ha demostrado actividad antihiperuricémica en *Smilax riparia* y *Smilax china*.⁽³⁸⁾ En el caso de *Smilax china*, se ha comprobado la actividad inhibitoria *in vitro* de la XO y una disminución significativa en los niveles de ácido úrico en suero a las concentraciones de 125, 250 y 500 mg/kg,⁽³⁸⁾ en correspondencia con los resultados de la investigación realizada. Por su parte, extractos de rizomas y raíces de *S. riparia* disminuyeron significativamente el nivel de ácido úrico en suero y aumentaron el nivel de ácido úrico en orina, así como la inhibición de la XO sérica y hepática.⁽³⁹⁾

Los productos naturales se han tomado como una fuente ideal de compuestos bioactivos. Varios metabolitos, incluidos polifenoles, saponinas, terpenoides y alcaloides, son inhibidores eficaces de la xantina oxidasa. Entre ellos, los polifenoles han atraído la mayor parte de la atención de los investigadores debido a su diversidad biológica, entre ellas, la de inhibir enzimas.⁽⁴⁰⁾ Dichos compuestos pudieron haber contribuido a la actividad demostrada.

CONCLUSIONES

Los resultados indican el efecto antihiperuricemiante de los extractos de hojas y rizomas de *S. purhampuy*, en ratas Wistar, a través de una disminución significativa en los niveles de ácido úrico en suero sanguíneo y en la actividad de la enzima xantina oxidasa a todas las dosis ensayadas, brindando los primeros hallazgos sobre la actividad hipouricemiante de la especie.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bernardes AC, Brandão CG, Araújo MC, Guimarães DA. *In vivo* anti-hyperuricemic activity of sesquiterpene lactones from *Lychnophora* species. Revista Brasileira de Farmacognosia 2019 [acceso: 10/01/2020]; 29:241-245. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.12.008>

2. Yusuf A, Dang XT, Ngoc QT, Ngoc MT, Mai VT and Duc VT. antihyperuricemia, antioxidant, and antibacterial activities of *Tridax procumbens* L. Foods 2019; 8(21). DOI: 10.3390/foods8010021.
3. Battelli MG, Bortolotti M, Polito L, Bolognesi A. The role of xanthine oxidoreductase and uric acid in metabolic syndrome. Biochim. Biophys. Acta (BBA) Mol. Basis Dis. 2018; 1864:2557-2565. DOI: 10.1016/j.bbadis.2018.05.000
4. Vegas CJA, Peraza RD, Vegas PC, Vegas PL. Ácido úrico como factor pronóstico de discapacidad neurológica y/o mortalidad en la enfermedad cerebrovascular isquémica aterotrombótica. Rev. Chil. Neurocirugía 2019; 45:45-55. Disponible en: <https://doi.org/10.36593/rev.chil.neurocir.v45i1.10>
5. Benn CL, Dua P, Gurrell R, Loudon P, Pike A, Storer RI, et al. Physiology of hyperuricemia and urate-lowering treatments. Front. Med. 2018 [acceso: 20/02/2020]; 5(160). Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmed.2018.00160>
6. Chen L, Luo Z, Wang M, Cheng J, Li F, Lu H, et al. The efficacy and mechanism of chinese herbal medicines in lowering serum uric acid levels: a systematic review. Front. Pharmacol. 2021; 11. DOI: 10.3389/fphar.2020.578318
7. Ahmad HI, Shoaib KHM, Akhtar N. Phenolic, flavonoid content and radical scavenging activity of *Smilax China* with its inhibitory potential against clinically important enzymes. Natural Product Research 2019:3-6. DOI:10.1080/14786419.2019.1648463
8. Da Cunha APS, Ferreira LS, Pasuch AJ, Petrica EEA, Sinhoro AP, Sinhoro VDG. Investigation of the possible protective effect of *Smilax fluminensis* Steud. leaf in mice subjected to oxidative stress by paracetamol. Bioscience Journal 2021; 37, e37070. Disponible en: <https://doi.org/10.14393/Bj-v37n0a2021-53862>
9. Global Biodiversity Information Facility (GBIF). *Smilax purhampuy* Ruiz. Copenhagen: GBIF; 2012 [acceso 05/08/2019]. Disponible en: <https://www.gbif.org/species/5295631>
10. JR Global del Perú S.A.C. Ficha Técnica-Zarzaparrilla. Lima: Inkaplus.com; 2011 [acceso 08/07/2019]. Disponible en: <http://www.yumpu.com/es/document/view/15083310zarzaparrilla-inkaplus>
11. Soledispa CPA, Mangas MR, Gutiérrez GYI, Sarmiento TGM. Perfil fitoquímico y actividad antiinflamatoria de hojas y rizomas de *Smilax purhampuy* Ruiz. Revista Cubana de Farmacia 2022; 55(1):e742.
12. Soledispa P, Santos OE, Miranda M, Pacheco R, Gutiérrez GYI and Scull R. Molecular barcode and morphological analysis of *Smilax purhampuy* Ruiz, Ecuador. PeerJ 2021 [acceso: 20/01/2022]; 9:e11028. Disponible en: <http://doi.org/10.7717/peerj.11028>
13. Minsap. NRSP 312. Norma Ramal. Medicamentos de origen vegetal. Extractos fluidos y tinturas. Métodos de ensayo. La Habana, Minsap; 1992 p. 15-19.
14. Miranda MM, Cuéllar AC. Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y productos naturales. Ciudad de La Habana: Editorial Félix Varela; 2000. p. 56-60.
15. Chlopicka J, Pasko P, Gorinstein S, Jedryas A, Zagrodzki P. Total phenolic and total flavonoid content, antioxidant activity and sensory evaluation of pseudocereal breads. LWT- Food Sci Technol. 2012; 46:548-555. DOI: 10.1016/j.lwt.2011.11.009
16. Chang CC, Yang MN, Wen HM, Chern JC. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. J Food Drug Anal. 2002; 10(3):178-182. DOI: 10.38212/2224-6614.2748
17. Pourmorad F, Hosseinimerhr SJ, Shahabimajd N. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. Afr J Biotechnol. 2006 [acceso: 20/02/2020]; 5(11):1142-1145. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/27797479>
18. Mohammad MK, Almasri IM, Tawaha K, Issa A, Al-Nadaf A, Hudaib M, et al. Antioxidant, antihyperuricemic and xanthine oxidase inhibitory activities of *Hyoscyamus reticulatus*. Pharmaceutical Biology 2010; 48(12):1376-63. DOI: 10.3109/13880209.2010.483521

19. Nguyen TD, Thuong PT, Hwang IH, Hoang TKH, Nguyen MK, Nguyen HA. Anti-Hyperuricemic, anti-inflammatory and analgesic effects of *Siegesbeckia orientalis* L. resulting from the fraction with high phenolic content. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2017; 17(191). DOI: 10.1186/s12906-017-1698-z.
20. Diehl KH, Hull R, Morton D, Pfister R, Rabemampianina Y, Smith D, *et al*. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. *J. Appl. Toxicol.* 2001;21(1):15-23. DOI:10.1002/jat.727
21. WMA. Declaración de la AMM sobre el uso de animales en la investigación biomédica. WMA: Buenos Aires, Argentina; 2016 [acceso 02/03/2017]. Disponible en: <https://www.wma.net/es/policespost/declaracionde-la-amm-sobre-el-uso-deanimales-en-lainvestigacionbiomedica/>
22. Böehringer M. *Biochemica Information*. Indianapolis, Estados Unidos; 1987, p-85.
23. Al-Snafi AE. Phenolics and flavonoids contents of medicinal plants, as natural ingredients for many therapeutic purposes- A review. *IOSR Journal Of Pharmacy* 2021 [acceso: 20/02/2022]; 10(7):42-81. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/343111170>
24. Mutha RE, Tatiya AU and Surana SJ. Flavonoids as natural phenolic compounds and their role in therapeutics: an overview. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences* 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s43094-020-00161-8>
25. Shorinwa OA and Shatange DD. Antioxidant and Hepatoprotective Activity of Leaf Extract of *Smilax anceps* Wild. *Diabetes Complications* 2022; 6(1):1-8. DOI: 10.33425/2639-9326.1098
26. Fonseca JC, Barbosa MA, Silva ICA, Duarte-Almeida JM, Castro AHF, dos Santos LLAR. Antioxidant and allelopathic activities of *Smilax brasiliensis* Sprengel (Smilacaceae). *South African Journal of Botany* 2017 [acceso: 15/05/2019]; 111:336-340. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2017.04.003>
27. Malge NR, Bandara AMPW, Keerthirathna WLR, Dissanayake DMI, Kamal PP, Witharana C, *et al*. Antioxidant and anti-proliferative activities of *Smilax Zeylanica* root and rhizome extract against liver carcinoma cells. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants* 2021 [acceso: 20/02/2022]; 27(2):188-199. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/10496475.2021.1891178>
28. Yuan Y, Tang X, Jia Z, Li C, Ma J and Zhang J. The effects of ecological factors on the main medicinal components of *Dendrobium officinale* under different cultivation modes. *Forests* 2020; 11(94): 16 pages. DOI:10.3390/f11010094.
29. Zargoosh Z, Ghavam M, Bacchetta G & Tavili A. Effects of ecological factors on the antioxidant potential and total phenol content of *Scrophularia striata* Boiss *Scientific Reports* 2019 [acceso: 20/02/2020]; 9:16021. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52605-8>
30. Scanu A, Luisetto R, Ramonda R, Spinella P, Sfriso P, Galozzi P, *et al*. Anti-inflammatory and hypouricemic effect of bioactive compounds: molecular evidence and potential application in the management of gout. *Curr. Issues Mol. Biol.* 2022; 44:5173-5190. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/cimb44110352>
31. Naz H, Naz S, Miraj R, Zaheer A, Azam N, Mughal IS, *et al*. The Effect of Berberine, a Drug From Chinese Folk Medicine, on Serum and Urinary Uric Acid Levels in Rats With Hyperuricemia. *Cureus* 2021; 13(2): e13186. DOI: 10.7759/cureus.13186
32. Oh DR, Kim JR, Choi CY, Choi C, Na C, Kang BY, *et al*. Effects of ChondroT on potassium oxonate induced hyperuricemic mice: downregulation of xanthine oxidase and urate transporter 1. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2019 [acceso: 20/02/2020]; 19:10. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2415-2>
33. Park JE, Yeom Z, Park KT, Han EH, Yu HJ, Kang HS, *et al*. Hypouricemic effect of ethanol extract of *Aster glehni* leaves in potassium oxonate-induced hyperuricemic rats. *Clin Nutr Res.* 2018 [acceso: 20/02/2020]; 7(2):126-135. Disponible en: <https://doi.org/10.7762/cnr.2018.7.2.126>.

34. Oliveira FAS, Ferreira RC, Parentoni RN, Andrade CCN, Lopes ALO, Cruz ALG, et al. Valores de referência de parâmetros bioquímicos e hematológicos de *Rattus norvegicus* (Wistar) da Unidade de Produção Animal do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos da Universidade Federal da Paraíba. Scientia Plena 2021; 17(3):1-13. DOI: 10.14808/sci.plena.2021.034901

35. Cicero AFG, Fogacci F, Cincione RI, Tocci G, Borghi C. Clinical effects of xanthine oxidase inhibitors in hyperuricemic patients. Med Princ Pract 2021;30:122-130. DOI: 10.1159/000512178

36. Torres RML, García CE, Soto PGA, Aradillas GC, Cubillas TAC. Evaluación de la toxicidad aguda *in vivo* del extracto etanólico y acuoso de *Calea urticifolia*. Botanical Sciences 2016; 94 (1):133-140.

37. Aular Y, Villamizar M, Pérez Y, Pérez V. Composición química y toxicidad aguda oral del aceite esencial de *Lippia alba* en ratones. Rev. Salus. UC. 2016; 20(1):43-51.

38. Li X, Jin W, Zhang W, Zheng G. The inhibitory kinetics and mechanism of quercetin-3-o-rhamnoside and chlorogenic acid derived from *Smilax china* L. EtOAc Fraction on xanthine oxidase. Int. J. Biol. Macromol. 2022 [acceso: 30/01/2023]; 213:447-455. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.5.188>

39. Xu L, Li LL, and Dong GJ. Traditional Chinese herbal medicine plays a role in the liver, kidney, and intestine to ameliorate hyperuricemia according to experimental studies. Hindawi. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2021 [acceso: 2/02/2023]; 2021, 13 pages. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2021/4618352>

40. Liu L, Zhang L, Ren L, Xie Y. Advances in structures required of polyphenols for xanthine oxidase inhibition. Food Frontiers 2020; 1:152-167. DOI: 10.1002/fft2.27

FINANCIACIÓN

Los autores no recibieron financiación para el desarrollo de la presente investigación.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

CONTRIBUCIÓN DE AUTORÍA

Conceptualización: Soledispa Pilar, Mangas Raisa.

Curación de datos: Soledispa Pilar Zavala Byron.

Análisis formal: Soledispa Pilar Mangas Raisa, Sarmiento Glenda.

Investigación: Soledispa Pilar, Mangas Raisa, Sarmiento Glenda, Zavala Byron.

Metodología: Soledispa Pilar, Mangas Raisa, Sarmiento Glenda.

Administración del proyecto: Soledispa Pilar.

Software: Sarmiento Glenda, Zavala Byron.

Supervisión: Soledispa Pilar, Mangas R.

Validación: Soledispa PA, Mangas Raisa.

Redacción - borrador original: Soledispa Pilar, Sarmiento Glenda, Zavala Byron.

Redacción - revisión y edición: Soledispa Pilar, Sarmiento Glenda, Zavala Byron.