

Actividad anti-inflamatoria de *Ziziphus amole*

Anti-inflammatory activity of *Ziziphus amole*

Romero-Castillo PA¹, MC Pérez Amador Barron¹, P Guevara Fefer¹, V Muñoz Ocotero¹, A Reyes Dorantes², F Aguirre Garcia², A Amaya Chavez³

Resumen. Actualmente se ha despertado el interés científico por la búsqueda de nuevos fármacos con actividad antiinflamatoria, con menos efectos colaterales de los ya existentes en el mercado. En este sentido, las plantas medicinales pueden ser una fuente natural alternativa, como es el caso de *Ziziphus amole* (Sessé & Moc.) M.C. Johnst. o corongoro, nativo de México. Se emplea en la medicina tradicional como antiinflamatorio, cicatrizante, analgésico, antidiarreico, en diabetes, asma y hemorroides. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto antiinflamatorio de los extractos crudos del corongoro *Z. amole* en el modelo de inflamación aguda en edema auricular inducido por 13-acetato-12-O-tetradecanoilforbol (TPA) en ratón, y la actividad mieloperoxidasa (MPO) de los extractos crudos en hexano, acetato de etilo y metanol en hojas, tallos, corteza y raíz. Se identificaron los metabolitos secundarios. Se midió la actividad antiinflamatoria de TPA en el modelo biológico de edema auricular inducido en ratón, y la actividad de la mieloperoxidasa (MPO) de cada extracto. Los extractos de las muestras con mayor rendimiento fueron el extracto metanólico de hojas (EMH) con 9,3% seguido del extracto de corteza (EMC) con 8,9% ambos en metanol. Los extractos de *Z. amole* revelaron la presencia de terpenos, glucósidos, flavonoides y saponinas. El extracto en metanol de raíz (EMR) inhibió significativamente el edema ($p \leq 0,05$) en un 82,3%, siendo este extracto el más activo con respecto al fármaco de referencia indometacina (80,9% de inhibición del edema). La actividad de la enzima mieloperoxidasa (91,1%) fue significativamente inhibida por el extracto metanólico de la corteza (EMC), seguida del extracto de raíz en acetato de etilo (ECR) con el 90,5% de inhibición. Se concluye que los extractos metanólicos de corteza y raíz presentan actividad antiinflamatoria y enzimática. Los resultados obtenidos en este estudio validan el uso de *Z. amole* como planta medicinal para el tratamiento de la inflamación y trastornos relacionados.

Palabras clave: Corongoro; *Ziziphus amole*; Modelo biológico; Edema auricular; 13-acetato-12-O-tetradecanoilforbol (TPA); Mieloperoxidasa (MPO).

Abstract. The search for new anti-inflammatory drugs with fewer side effects than those currently available in the market has recently attracted the interest of scientists. Medicinal plants might be a natural source of medicines. Such is the case with *Ziziphus amole* (Sessé & Moc.) M.C. Johnst. or corongoro, a plant species native to México. It is used in traditional medicine as an anti-inflammatory drug, a healing substance and an analgesic, and in the treatment of diarrhea, diabetes, asthma and hemorrhoids. The aim of this study was to evaluate the anti-inflammatory effect of *Z. amole* in the acute 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) induced mouse ear edema model, as well as myeloperoxidase (MPO) activity in hexane, ethyl acetate and methanol extracts of leaves, stems, bark and roots. Secondary metabolites were identified. We measured the anti-inflammatory activity of TPA in the biological model of induced ear edema in mice, and the myeloperoxidase (MPO) activity of each extract. The extracts with the highest yields were those of leaf (LEM) with 9.3%, and bark (BEM) with 8.9% both in methanol. The extracts of *Z. amole* revealed the presence of terpenes, glycosides, flavonoids and saponins. The methanol root extract significantly inhibited (REM) ($p \leq 0.05$) ear edema in mice by 82.3%; this extract was more active than the reference drug indomethacin (80.9% inhibition of the edema). The myeloperoxidase enzyme activity was significantly inhibited by the methanol bark extract (BEM) by 91.1%, followed by the root extract in ethyl acetate (REA) with 90.5% inhibition. Results obtained in this study validate the use of *Z. amole* as a medicinal plant for the treatment of inflammation and related disorders.

Keywords: Corongoro; *Ziziphus amole*; Biological model; Ear edema; 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA); Myeloperoxidase (MPO).

¹Laboratorio de Química, Facultad de Ciencias, UNAM. Ciudad Universitaria UNAM, Coyoacan C.P. 04510, México D.F. México.

²Laboratorio de Enología, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, UAMI. Av. San Rafael Atlixco No. 186 Col. Vicentina C.P. 09340. México.

³Departamento de Farmacia y Toxicología, Facultad de Química, UAEMEX. Paseo Tollocán esq. Paseo Colón, Residencial Colón C.P. 50120. Estado de México.

Address Correspondence to: Pilar America Romero-Castillo, e-mail: roca555@yahoo.com.mx

Recibido / Received 18.IX.2012. Aceptado / Accepted 20.XI.2012.

INTRODUCCIÓN

Diferentes estudios realizados en especies del género *Ziziphus* han demostrado propiedades farmacológicas por el uso de diversas partes de la planta. En la corteza y la raíz de *Z. vulgaris* Lam. var. *spinosa* Bunge C.K.A. Schneid. (sin. *Z. sativa* Gaertn., *Z. mauritiana* Lam.) se han encontrado antocianinas, triterpenoides, saponinas, flavonoides, ácido alifático, y β sitosterol (Rastogi y Mehrotra 1990, 1991, 1993, 1995 y 1998). Recientemente se ha caracterizado un ácido, zizyphulanostan-18-oico (Kirtikar y Basu, 2000; Hayat et al., 2004) y un alcaloide ciclopeptido, Xilopirina -F, ambos aislados de la corteza de *Z. xylopira* (Pandey et al., 2008). En un estudio realizado por Borgi et al. (2007) en el modelo edema inducido subplantar con carragenina en ratas Wistar, se probó el extracto metanólico de la corteza de *Z. lotus* L. (Desf.) a dosis de 200 mg/kg; dicho estudio mostró un 67,57% de reducción en el volumen de la pata. De igual manera, la administración vía intraperitoneal (i.p.) del extracto acuoso de la corteza de *Z. lotus* L. (Desf.) redujo significativamente el edema en la pata de la rata en un 37,81; 69,18, y 72,90%, a dosis de 50, 100 y 200 mg/kg, respectivamente. Dicho extracto mostró un efecto antiinflamatorio significativo en la fase aguda de la inflamación, mediada por la histamina, bradiquininas y las prostanglandinas producidas bajo el efecto de la ciclooxigenasa (Borgi et al., 2007b; He et al., 2007).

En investigaciones recientes de *Z. lotus* L. (Desf.), conocida también como jujuba, se encontraron las vitaminas A (71,63 mg) y C (190 mg) en extractos acuosos de la pulpa del fruto. Además, en las hojas se hallaron la vitamina E (155,71 mg) en mayor concentración y ácido linolénico (18:3 n-3), un precursor de los ácidos grasos n-3 con capacidad antioxidante. Se observó que los extractos de *Z. lotus* L. (Desf.) ejercen efectos inmunosupresores, siendo el extracto de las semillas el más potente (Benammar et al., 2010).

La corteza y raíz tienen efectos antiinflamatorios, antioxidantes e inmunosupresores los cuales están relacionados con la mieloperoxidasa (MPO).

La mieloperoxidasa es una enzima abundante en las células mieloides, particularmente en los neutrófilos, y en menor grado en los monocitos y macrófagos tisulares. La MPO juega un papel importante en la defensa del huésped contra las bacterias y los virus. Históricamente se ha considerado el componente más importante en el proceso inflamatorio. Actualmente se usa como marcador biológico clave en los diferentes campos de la cardiología, oncología, enfermedades crónicas degenerativas y autoinmunes (Ikitimur y Karadag, 2010).

Existe una gran diversidad de fármacos para tratar los signos y síntomas de la inflamación aguda y crónica. Éstos se dividen en dos grupos: no esteroideos (AINES), cuyo prototipo es la aspirina, y los esteroideos, cuyo prototipo es la hidrocortisona (cortisol).

Entre los efectos colaterales indeseables que provocan los AINES se encuentra la producción de úlceras e intolerancia en vías gastrointestinales, bloqueo de la agregación plaquetaria (inhibición de la síntesis de tromboxano), inhibición de la motilidad uterina, de la función renal mediada por prostaglandinas, reacciones de hipersensibilidad y aumento del riesgo de infarto al miocardio (Hippisley-Cox, 2005).

Los glucocorticoides también evitan o suprimen la inflamación. El uso prolongado de estos fármacos inhibe la síntesis de la isoforma inducible de la enzima óxido nítrico sintetasa (NOS), produce la supresión de la función pituitaria-adrenal, hiperglucemia y glucosuria, incrementando las infecciones y úlceras pépticas (Ogiral, 1991). Actualmente se ha despertado el interés científico por la búsqueda de nuevos fármacos con actividad antiinflamatoria con menos efectos colaterales de los ya existentes en el mercado. Una fuente natural de dichos fármacos pueden ser las plantas medicinales, como es el caso de *Z. amole* (Sessé & Moc.) M.C. Johnst. o "coróngoro", originario de Xochipala, municipio de Eduardo Neri, estado de Guerrero, México (Gobierno del Estado de Guerrero, 2012). La especie vegetal *Ziziphus amole* (Sessé & Mociño) M.C. Johnst. pertenece a la familia Rhamnaceae. Es un árbol espinoso de aproximadamente 10 m de altura de hojas ovoides cordadas o redondeadas en la base y con 3 nervaduras de 3 a 5 cm, flores en grupos axilares pubescentes, fruto globoso de color rojo de 1 cm (Johnston, 1963). Los habitantes de Xochipala poseen un amplio conocimiento sobre la biología y uso medicinal de las plantas de *Z. amole* con un índice de correlación de 0,63. El porcentaje de uso de la corteza de *Z. amole* en heridas es del 38,1%; en diabetes, diarrea, asma y hemorroides del 27,7%; para el dolor de estómago el 15,2%, y para granos el 11,3%. El peso promedio de la corteza que se usa para elaborar sus infusiones o cataplasmas es de 9,29 g/L. La manera de preparar la infusión es colocar la corteza fresca o seca en agua hirviendo y hacer lavados o tomar la infusión hasta sanar; en cataplasma, se tuesta la corteza y se muele finamente hasta obtener un polvo que se coloca en la parte afectada (Romero Castillo et al., 2011).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto antiinflamatorio de *Z. amole* en el modelo de inflamación aguda en edema auricular inducido por 13-acetato-12-O-tetradecainolforbol (TPA) en ratón, y la actividad de la mieloperoxidasa (MPO) en los extractos crudos de hexano, acetato de etilo y metanol de las hojas, tallos, corteza y raíz.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta de la planta. La colecta de ejemplares botánicos de *Z. amole* se realizó en la comunidad de Xochipala del municipio de Eduardo Neri, Guerrero. La confirmación taxonómica se determinó utilizando claves taxonómicas de estructuras florales y vegetativas, requeridas para el nivel de familia, género y especie. Finalmente la determinación fue cotejada con

los ejemplares del Herbario Nacional MEXU del Instituto de Biología de la UNAM con el número de folio 1227106.

Preparación de los extractos. Se colectaron hojas, tallos, corteza y raíz, de ejemplares localizados geográficamente a 17° 48' 47" N y 99° 38' 29" O en terrenos pertenecientes a Xochipala a 1100 msnm.

El material biológico fue colocado en una cámara a temperatura controlada a 35 ± 2 °C por 15 días para su completa deshidratación. Posteriormente se molieron cada una de las partes de la planta por separado de hojas, tallos, corteza y raíz en un molino automático modelo Retsch 2000, Buchi R II. Del polvo obtenido se tomaron porciones de (1:1,5) 523,2 g de corteza; (1,3:1,5) 399 g de raíz; (2:1,5) 261,2 g de tallos, y (2,4:1,5) 216,93 g de hojas. Dichas porciones se colocaron, por separado, en recipientes de vidrio conteniendo 1,5 L con diferentes disolventes (hexano, acetato de etilo y metanol) a temperatura ambiente por 15 días, con agitación y reposición de volumen. Los macerados se filtraron y el disolvente se eliminó a presión reducida por medio de un evaporador rotatorio marca Buchi R II No.137884. Los extractos secos fueron colocados en viales color ámbar de 75 mL en una cámara al vacío para evaporar totalmente el disolvente y determinar los rendimientos. Se realizaron pruebas para determinar la presencia de terpenos (Liebermann-Burchard), glucósidos (Molisch), flavonoides (Shinoda), fenoles (FeCl_3), taninos (gelatina), alcaloides (Dragendorff) y saponinas (prueba de espuma) (Domínguez, 1973).

Animales de experimentación. La unidad de producción y experimentación (UPEAL) proporcionó los ratones machos CD1 (25 – 30 g) de 3 semanas de nacidos. Los animales se mantuvieron bajo las normas y guías para el cuidado y uso de animales en el laboratorio (NOM-062-ZOO-1999): a temperaturas de 24 ± 2 °C, con ciclos de luz, oscuridad de 12/12 h, y 48,5 % de humedad relativa, alimentados con alimento Labdiet 5001® y agua *ad libitum*.

Evaluación del efecto antiinflamatorio. El modelo biológico empleado fue el de edema auricular en ratón, inducido por 13-acetato-12-O-tetradecanoilforbol (TPA Sigma-Aldrich), basado en el método descrito por (Roa et al., 1993, González et al., 2009). Se emplearon ratones machos CD1. Los animales se dividieron al azar en grupos de cinco por tratamiento. A todos los grupos de ratones se les administró Sedalphorte® (pentobarbital sódico 31,5 mg/kg, i.p.) y una solución de TPA (2,5 µg/ oreja), disueltos en etanol (10 µL). Esto se realizó por vía tópica en la oreja derecha, en ambas caras de la oreja. La oreja izquierda recibió únicamente etanol (10 µL). Después de 10 min del tratamiento con TPA se administraron los extractos a ensayar (1 mg/oreja), e indometacina Sigma-Aldrich (0,31 µg/oreja) como droga

de referencia, disueltos en 20 µL de acetona, administrados en ambas caras de las orejas (10 µL/oreja). El control únicamente recibió el vehículo (20 µL de acetona). Cuatro horas después, los animales fueron sacrificados con bióxido de carbono (CO_2), y con un sacabocados de 7 mm de diámetro fueron horadadas ambas orejas. El tamaño del edema fue obtenido por la diferencia de peso de cortes de las orejas tratada y no tratada. La actividad anti-inflamatoria fue expresada como la inhibición del edema (IE) en porciento respecto al edema formado en los animales del grupo control de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\%IE = 100 - \left[\frac{(B \times 100)}{A} \right]$$

Donde:

A = Edema inducido únicamente por TPA.

B = Edema inducido por TPA y el extracto.

Actividad de la Mieloperoxidasa (MPO). La actividad de MPO se midió con las biopsias tomadas de las orejas 4 h después de la administración del TPA mediante el método adaptado de Bradley et al. (1982 a, b.) Cada biopsia de oreja de ratón se colocó en 80 mL de buffer de fosfato sódico (PBS) a pH 5,4 con 0,5% de bromuro de hexadeciltrimetilamonio (HTAB). Cada muestra se homogeneizó durante 30 s a 4 °C en un homogeneizador (OMNI Internacional, modelo 125). El homogeneizado se congeló y se descongeló 3 veces, 20 s y fue centrifugado a 12,000 rpm durante 15 min a 4 °C. Se tomaron 10 µL del sobrenadante resultante y se agregó en 96 placas de microtitulación, y se adicionaron 180 µL PBS 80 mM (pH 5,4), sin HTAB. El experimento se realizó por cuadruplicado. Las placas de microtitulación se calentaron a 37 °C; posteriormente, 20 µL al 0,017% de peróxido de hidrógeno se adicionaron a cada pozo. Para el ensayo de MPO, se colocaron 20 µL de 3,3', 5, 5'- tetrametilbencidina 18,4 Mm al 50% dimetilformamida acuosa para iniciar la reacción. Las placas de microtitulación fueron incubadas a 37 °C con agitación por 5 min. La reacción se detuvo con 20 µL de H_2SO_4 2 M. La actividad de la enzima MPO se evaluó colorimétricamente usando un lector de microplacas de BioTek (ELx808) a una longitud de onda de 450 nm. La actividad de MPO se expresó como la densidad óptica (DO).

HTAB = hexadeciltrimetil-bromuro de amonio (Sigma-Aldrich)

TMB = 3,3', 5,5'-tetrametilbencidina (Sigma-Aldrich)

DMF = N, N-dimetilformamida (Sigma-Aldrich)

Análisis Estadístico. Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza de una vía (ANOVA) seguido de la prueba de Dunnett's con un nivel de significancia $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

Los extractos metanólicos con mayor rendimiento fueron el extracto de hojas (EMH) con 9,38%, seguido del extracto de corteza (EMC) con 8,93%. El análisis fitoquímico preliminar por grupos de los extractos crudos de *Z. amole* reveló que la mayor cantidad de terpenos se encontró en los extractos metanólicos de corteza (EMC) y de acetato de etilo de hojas (ECH): en tercer lugar, el extracto de acetato de etilo de tallo (ECT). En el EMC se encontró además la presencia abundante de saponinas (Tabla 1).

El extracto en metanol de raíz (EMR) inhibió un 82,3% el edema de oreja en ratón, comparado con la indometacina que lo inhibió en un 80,94% (Tabla 2).

La actividad de la enzima mieloperoxidasa (MPO), indicadora de la infiltración leucocitaria, fue significativamente inhibida en el extracto metanólico de la corteza (EMC) en un 91,1%, seguida del extracto de raíz en acetato de etilo (ECR) con el 90,5% de inhibición, similar al fármaco de referencia indometacina (Tabla 3).

DISCUSIÓN

Los terpenos, cuya función es la de proteger a las plantas contra la acción depredadora de insectos y parásitos (Kuklinski, 2000), se encontraron distribuidos en diferentes

partes de la planta. Estos compuestos han sido relacionados con diferentes actividades biológicas como anticancerígena, antimicrobiana, antiespasmódica, cardiotónica, antioxidante, inmunoestimulantes y antiinflamatoria (Mahajan y Chopda, 2009). Por otro lado, estudios sobre la actividad de las saponinas muestran propiedades adyuvantes, hemolíticas, sedantes, ansiolíticas y antiinflamatorias (Mahajan y Chopda, 2009). Es probable que la actividad antiinflamatoria que presentan los extractos estudiados sea debida, al menos en parte, a la presencia de estos metabolitos secundarios. Existen pruebas más sensibles para confirmar la presencia de otros compuestos presentes en los extractos que podrían estar relacionados con la actividad antiinflamatoria.

En relación al análisis de la actividad antiinflamatoria (TPA) de los extractos, se observó que el extracto metanólico de raíz (EMR) fue el que inhibió mayormente el edema de oreja en ratón seguido de: EHT > ECR > EMC > ECT > resto. Borgi en el 2008 realizó un estudio en donde probó el extracto metanólico de la corteza de *Z. lotus* L. (Desf.), a una dosis de 200 mg/kg, en el modelo de edema inducido subplantar con carragenina en ratas Wistar y mostró un 67,57% de reducción en el volumen de la pata. De igual manera la administración vía intraperitoneal del extracto acuoso de la corteza de *Z. lotus* L. (Desf.) redujo significativamente el edema en la pata en un 37,81%, 69,18% y 72,90% a dosis de 50, 100 y 200 mg/kg, respectivamente.

Tabla 1. Análisis Fitoquímico de *Ziziphus amole*.

Table 1. Phytochemical analysis of *Ziziphus amole*.

	Extractos	Rendimiento (%)	Terpenos	Glucósidos	Flavonoides	Taninos	Alcaloides	Saponinas
Hojas (H)	EH	0,933	+	-	-	-	-	-
	EC	1,23	++++	-	+++	-	-	-
	EM	9,38	++	-	+	-	-	-
Tallo (T)	EH	0,58	+	-	-	-	-	-
	EC	1,44	+++	-	+	-	-	-
	EM	5,57	-	+	+	+	-	++
Corteza (C)	EH	0,38	++	-	-	-	-	-
	EC	0,46	++	-	++	-	-	-
	EM	8,93	++++	++	+	+	-	++++
Raíz (R)	EH	0,21	++	-	-	-	-	-
	EC	1,59	+	-	-	-	-	-
	EM	5,67	++	++	++	+	-	++

% Rendimiento = (Peso extracto seco / Peso de la planta)*100.

EH = extracto hexánico; EC = extracto acetato de etilo; EM = extracto metanólico.

Metabolitos secundarios presentes en la planta: (++++) abundante, (+++) presente, (++) moderadamente presente, (+) levemente presente, (-) ausente.

% Yield = (weight of dried extract / weight of plant material)*100.

EH = hexane extract; EC = ethyl acetate extract; EM = methanol extract.

Secondary metabolites present in the plant: (++++) abundant, (+++) present, (++) moderately present, (+) slightly present, (-) absent.

Tabla 2. Efecto antiinflamatorio de los extractos de *Ziziphus amole* en edema auricular de ratón inducido por TPA.

Table 2. Anti-inflammatory effect of extracts of *Ziziphus amole* on TPA-induced mouse ear edema model.

	Extracto	Dosis (mg/oreja)	Edema (mg)	Inhibición (%)
Hojas (H)	EH b	1	7,63 ± 1,27**	40,6**
	EC b	1	5,70 ± 0,81**	55,7**
	EM a	1	7,17 ± 0,85*	40,6*
Tallo (T)	EH b	1	3,70 ± 0,67**	71,2**
	EC b	1	5,00 ± 1,30**	61,1**
	EM a	1	5,50 ± 1,11**	54,4**
Corteza (C)	EH b	1	5,57 ± 0,81**	56,7**
	EC b	1	9,73 ± 0,79	24,3
	EM a	1	4,20 ± 0,47**	65,1**
Raíz (R)	EH b	1	5,60 ± 0,79**	56,4**
	EC b	1	4,47 ± 2,15**	65,2**
	EM a	1	2,13 ± 0,09**	82,3**
Indometacina	a	0,31	2,30 ± 1,15**	80,9**

EH = extracto hexánico; EC = extracto acetato de etilo; EM = extracto metanólico.

Control: (a) etanol-acetona 1:1; 12,07 ± 2,10; (b) acetona-diclorometano, 12,87 ± 1,28.

Los resultados fueron analizados mediante un ANOVA seguido de una prueba Dunnett's. Los valores de *p≤0,05 y **p≤0,01 son considerados *significativos o **altamente significativos respecto al grupo control.

EH = hexane extract; EC = ethyl acetate extract; EM = methanol extract.

Control: (a) ethanol-acetone 1:1; 12.07 ± 2.10; (b) acetone-dichloromethane, 12.87 ± 1.28.

Results were analyzed by ANOVA followed by Dunnett's test. The values of * p≤0.05 and ** p≤0.01 are considered *significant or **highly significant as compared to the control group.

La mieloperoxidasa (MPO), marcador biológico clave en los diferentes campos de la medicina (Ikitimur y Karadag, 2010), es el componente más importante en el proceso inflamatorio. Es importante remarcar que de acuerdo con los resultados obtenidos y la comparación de las tres tablas, la actividad de la MPO no es el único factor implicado en la actividad antiinflamatoria de algunos de los extractos. Esto es debido a que EMR presentó la mayor actividad antiinflamatoria pero sin inhibición significativa de la MPO (82,3%** y 73,7%** de inhibición sin y con agregado de la MPO, respectivamente).

El extracto metanólico de corteza (EMC) fue el que presentó mayor efecto en la inhibición de la actividad de la MPO, de manera significativa comparada con la actividad enzimática del grupo control. Los demás extractos mostraron un efecto menor en orden decreciente de la siguiente forma ECR > EHT > ECH > EHR > resto (Tabla 3). Esto sugiere que la presencia mayoritaria de terpenos y de las saponinas en los extractos probados podría producir el efecto antiinflamatorio.

Tabla 3. Inhibición de la actividad de la mieloperoxidasa (MPO) en los extractos de *Ziziphus amole*.

Table 3. Inhibition of myeloperoxidase activity (MPO) in extracts of *Ziziphus amole*.

	Extracto	Dosis (mg/oreja)	Actividad MPO (OD/biosia)	Inhibición (%)
Hojas (H)	EH b	1	0,042 ± 0,012**	74,1**
	EC b		0,032 ± 0,010**	80,3**
	EM a		0,025 ± 0,009*	77,8*
Tallo (T)	EH b		0,023 ± 0,008**	85,9**
	EC b		0,055 ± 0,020**	65,7**
	EM a		0,026 ± 0,004*	76,6*
Corteza (C)	EH b		0,037 ± 0,002**	76,6**
	EC b		0,079 ± 0,023*	50,5*
	EM a		0,001 ± 0,006*	91,1*
Raíz (R)	EH b		0,033 ± 0,002**	79,3**
	EC b		0,015 ± 0,002**	90,5**
	EM a		0,029 ± 0,011	73,7**
Indometacina	a	0,31	0,001 ± 0,006**	91,4**

EH = extracto hexánico; EC = extracto acetato de etilo; EM = extracto metanólico.

Cada valor representa la media de n=5 animales ± Desviación estándar.

Control: (a) etanol-acetona 1:1; 0,112 ± 0,065; (b) acetona-diclorometano, 0,061 ± 0,056.

Los resultados fueron analizados mediante un ANOVA seguido de una prueba, Dunnett's. Los valores de *p≤0,05 y **p≤0,01 son considerados *significativos o **altamente significativos respecto al grupo control.

EH = hexane extract; EC = ethyl acetate extract; EM = methanol extract.

Each value is the mean ± 1 S.D. of n= 5 animals.

Control: (a) ethanol-acetone 1:1; 0.112 ± 0.065; (b) acetone-dichloromethane, 0.061 ± 0.056.

Results were analyzed by ANOVA followed by Dunnett's test. The values of *p≤0.05 and **p≤0.01 are considered *significant or **highly significant as compared to the control group.

Sin embargo, no se debe descartar la acción de otros compuestos que podrían afectar la actividad de la MPO.

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio validan el uso de *Z. amole* como planta medicinal para el tratamiento de la inflamación.

AGRADECIMIENTOS

Al M.C. Armando Gómez Campos de la Facultad de Ciencias como guía en la colecta de *Z. amole*. Al M.C. Rafael Torres Colín y a la M.C. Verónica Juárez Jaimes, del Herbario Nacional MEXU del Instituto de Biología de la UNAM por

la confirmación taxonómica de *Z. amole* (Sessé & Moc.) M. C. Johnst. Al M.C. Antonio Nieto Camacho del Instituto de Química de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma Nacional (UNAM) en el manejo del modelo biológico *in vivo*. A Juanita Bello Flores y a todos los habitantes por su hospitalidad en Xochipala, Guerrero.

REFERENCIAS

- Benammar, Ch., A. Hichami, A. Yessoufou, A. Simonin, M. Belarbi, H. Allali y N.A. Khan (2010). *Zizyphus lotus* L. (Desf.) modulates antioxidant activity and human T-cell proliferation. *Complementary and Alternative Medicine* 10: 2-9.
- Borgi, W., K. Ghedira y N. Chouchane (2007a). Antiinflammatory and analgesic activities of *Zizyphus lotus* (L.) root, barks. *Fitoterapia* 78: 16-19.
- Borgi, W., A. Bouraoui y N. Chouchane (2007 b). Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* (L.) extracts. *Journal of Ethnopharmacology* 112: 228-231.
- Borgi, W., M.C. Recio, J.L. Ríos y N. Chouchane (2008). Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from *Zizyphus lotus* (L.) Lam. *African Journal of Botany* 74: 320-324.
- Bradley, P.P., R.D. Christensen y G. Rothstein (1982 a). Cellular and extracellular myeloperoxidase in pyogenic inflammation. *Blood* 60: 618.
- Bradley, P.P., D.A. Priebat, R.D. Christensen y G. Rothstein (1982 b). Measurement of Cutaneous Inflammation: Estimation of Neutrophil Content with an enzyme Marker. *Journal of Investigative Dermatology* 78: 206-209
- Di Carlo, G., N. Mascolo, A.A. Izzo y F. Capasso (1999). Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sciences* 65: 337-353.
- Domínguez, A.X. (1973). Investigación Fitoquímica. Limusa. (Eds.), México. 281 p.
- Gobierno del Estado de Guerrero, (2012). Portal Oficial del Gobierno del Estado de Guerrero. Disponible en <http://www.guerrero.com.mx> Fecha de consulta mayo 2012.
- González, A.E., A. Gómez, L.S. Cortés, T. Hernández, A. Ramírez y A. Nieto C. (2009). Heptacoordinate Tin (IV) Compounds Derived from Pyridine Schiff Bases: Synthesis, Characterization, *in Vitro* Cytotoxicity, Anti-inflammatory and Antioxidant Activity. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 57: 5-15.
- Havsteen, B.H. (2002). The bioactivity and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics* 96: 67-202.
- Hayat, M. M., S.H. Ansari, M. Ali y T. Naved (2004). New Compounds from *Zizyphus vulgaris*. *Pharmaceutical Biology* 42: 508-511.
- He, M., H.Y. Lau, S.W. Ng y M. Bathia (2007). Review: Chemokines in acute inflammation: regulation, function and therapeutic strategies. *International Journal of Integrative Biology* 1: 18-27.
- Hippisley-Cox, J. y C. Coupland (2005). Risk of myocardial infarction in patients taking cyclo-oxygenase-2 inhibitors or conventional non-steroidal anti-inflammatory drugs: population based nested case-control analysis *British Medical Journal* 330: 1366-1369.
- Ikitimur, B. y B. Karadag (2010). Role of myeloperoxidase in cardiology. *Future Cardiology* 6: 693-702.
- Johnston, M.C. (1963). The species of *Zizyphus* indigenous to United States and Mexico. *American Journal of Botany* 50:10: 1020-1027.
- Kirtikar, K.R. y B.D. Basu (2000). Indian Medicinal Plants, (Eds.), Lalit Mohan Basu Prakashan. Allahabad, India, pp. 1951-1952.
- Kuklinski, C. (2000). Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Omega S.A. (Eds.), Barcelona, España, pp. 127-132.
- Mahajan, R.T. y M.Z. Chopda (2009). Phyto-Pharmacology of *Zizyphus jujuba* Mill- A plant review. *Pharmacognosy Review* 3: 320-329.
- Middleton, E. y C. Kandaswami (1992). Effects of flavonoids on immune and inflammatory cell functions. *Biochemical Pharmacology* 43: 1167-1179.
- Middleton, E., C. Kandaswami y T.C. Theoharides (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacological Reviews* 52: 673-751.
- Ogirala, R.G., T.K. Aldrich, D.J. Prezant, M.J. Sinnett, J.B. Enden y M.H. Williams (1991). High-dose intramuscular triamcinolone in severe, chronic, life-threatening asthma. *The New England Journal of Medicine* 324: 585-589.
- Pandey, M.B., J.P. Singh, A.K. Singh y V.P. Singh (2008). Xylopyrine-F, a new cyclopeptide alkaloid from *Zizyphus xylopyra*. *Journal of Asian Natural Products Research* 10: 725-728.
- Rao, Y.K., S.H. Fang y Y.M. Tzeng (2005). Anti-inflammatory activities of flavonoids isolated from *Caesalpinia pulcherrima*. *Journal of Ethnopharmacology* 100: 249-253.
- Rastogi, R.P. y B.M. Mehrotra (1990). Compendium of Indian Medicinal Plants, vol. 1. (Eds.), CD RI Lucknow and PID, New Delhi, India, pp. 441-443.
- Rastogi, R.P. y B.M. Mehrotra (1991). Compendium of Indian Medicinal Plants, vol. 2. (Eds.), CD RI Lucknow and PID, New Delhi, India, pp. 693-694.
- Rastogi, R.P. y B.M. Mehrotra (1993). Compendium of Indian Medicinal Plants, vol. 3. (Eds.), CD RI Lucknow and PID, New Delhi, India, pp. 719-721.
- Rastogi, R.P. y B.M. Mehrotra (1995) Compendium of Indian Medicinal Plants, vol. 4. (Eds.), CD RI Lucknow and PID. New Delhi, India, pp. 775-778.
- Rastogi, R.P. y B.M. Mehrotra (1998). Compendium of Indian Medicinal Plants, vol. 5. (Eds.), CD RI Lucknow and PID. New Delhi, India, pp. 913-916.
- Ríos, J.L., M.C. Recio, S. Mániz y R.M. Giner (2000). Natural triterpenoids as anti-inflammatory agents. *Studies in Natural Products Chemistry: Bioactive Natural Products*. vol. 22. (Eds.), Elsevier, Amsterdam, Holanda, pp. 93-143.
- Rao, T.S., J.L. Currie, A.F. Shaffer y P. Isakson (1993). Comparative evaluation of arachidonic acid (AA) and tetradecanoylphorbol acetate (TPA) induced dermal inflammation. *Inflammation* 10: 723-741.
- Romero, C.P.A., C.A. Gómez, M.C. Pérez Amador B., O.V. Muñoz y D.A. Reyes (2011). Uso de la corteza del Corógoro *Zizyphus amole* (Sessé & Moc.) M.C. Johnst. en la medicina tradicional xochipalense. *Polibotánica* 32: 207-218.
- Rotelli, A.E., T. Guardia, A.O. Juárez, N.E. de la Rocha y L.E. Pelzer (2003). Comparative study of flavonoids in experimental models of inflammation. *Pharmacological Research* 48: 601-606.
- Safayhi, H. y E.R. Sailer (1997). Anti-inflammatory actions of pentacyclic triterpenes. *Planta Medica* 63: 487-493.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (1999). Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.