



Abanico Veterinario. Enero-Diciembre 2023; 13:1-14. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2023.9>  
Artículo Original. Recibido:27/05/2021. Aceptado:28/04/2023. Publicado:02/06/2023. Clave:e2021-32.  
<https://www.youtube.com/watch?v=dJBhroMsr9E>

## ***Salix babylonica* una fuente de compuestos activos para el tratamiento de enfermedades inflamatorias en animales**

*Salix babylonica* a source of active compounds for the treatment of inflammatory diseases in animals



**Ojeda-Ramírez Deyanira<sup>ID</sup>, Rivero-Perez Nallely<sup>ID</sup>, Ocampo-López Juan<sup>ID</sup>, Zaragoza-Bastida Adrian<sup>ID</sup>, Sosa-Gutiérrez Carolina<sup>ID</sup>, Peláez-Acero Armando\*<sup>ID</sup>**

Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Av. Universidad Km 1, Ex-Hda. de Aquetzalpa, 43600 Tulancingo, Hidalgo, México. \*Autor responsable y para correspondencia: pelaeza@uaeh.edu.; Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Av. Universidad Km 1, Ex-Hda. de Aquetzalpa, 43600 Tulancingo, Hidalgo, México. Tel.: 01 771 717 2000. E-mail: dojeda@uaeh.edu.mx, nallely\_rivero@uaeh.edu.mx, jocampo@uaeh.edu.mx, adrian\_zaragoza@uaeh.edu.mx, carolina\_sosa@uaeh.edu.mx, pelaeza@uaeh.edu.mx

### **RESUMEN**

El bienestar de los animales terrestres describe las expectativas de la sociedad sobre las condiciones que los animales deberían experimentar cuando están bajo el control humano. Estos principios incluyen que los animales deben estar libres de dolor, lesiones y enfermedades. La inflamación es el mecanismo de defensa de un huésped contra una infección bacteriana o viral, o una lesión física o química al huésped. Los metabolitos secundarios de las plantas son una alternativa eficaz para el tratamiento de enfermedades inflamatorias. El propósito de esta investigación fue evaluar la capacidad antiinflamatoria de un extracto hidroalcohólico de hojas de *Salix babylonica* (HESB) empleando el modelo de edema auricular inducido por TPA en ratones. El HESB mostró una buena actividad antiinflamatoria sin diferencia estadística significativa con el fármaco de referencia, indometacina. Por este motivo, se realizó una bipartición de HESB, obteniendo una fracción acuosa (AFSB) con actividad farmacológica leve ( $30.64 \pm 3.03$  %) y una fracción orgánica (EAFSB) que mostró el mejor efecto antiinflamatorio ( $67.08 \pm 7.15$  %). Anteriormente, identificamos los flavonoides antiinflamatorios luteolina y luteolosido como los componentes principales de EAFSB, por lo que el efecto antiinflamatorio de *Salix babylonica* puede ser atribuido a estos compuestos. Además, el análisis histopatológico mostró que las orejas de los ratones tratados con *Salix babylonica* suprimieron la infiltración de neutrófilos en el sitio de inflamación. Estos resultados apoyan el uso etnomédico de esta planta y evidencian el posible uso de *Salix babylonica* en el tratamiento del proceso inflamatorio en animales.

**Palabras clave:** *Salix babylonica*, efecto antiinflamatorio, neutrófilos.

### **ABSTRACT**

The well-being of terrestrial animals describes society's expectations for the conditions animals should experience when under human control. These principles include that animals must be free from pain, injury and disease. Inflammation is a host's defensive mechanism against bacterial or viral infection and physical or chemical stimulus to the host. Metabolites from plants are an efficient alternative for treatment of inflammatory diseases. The purpose of this research was to evaluate the anti-inflammatory capacity of a hydro-alcoholic extract from *Salix babylonica* leaves (HESB) employing the auricular edema induced by the



TPA model in mice. The HESB showed good anti-inflammatory activity without significant difference from the reference drug, indomethacin. For this reason, a bipartition of HESB was conducted, obtaining an aqueous fraction (AFSB) with slight activity ( $30.64 \pm 3.03$  %) and an organic fraction (EAFSB), which showed the best anti-inflammatory effect ( $67.08 \pm 7.15$  %). Previously, we identified anti-inflammatory flavonoids luteolin and luteoloside as the major components of EAFSB. In addition, histopathological analysis showed that mouse ears treated with *Salix babylonica* suppressed neutrophil infiltration into the inflammation site. These results support the ethno-medical use of this plant and evidenced that *Salix babylonica*'s applicability and value as an anti-inflammatory treatment for animals.

**Keywords:** *Salix babylonica*, anti-inflammatory effect, neutrophils.

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad, existe una creciente preocupación pública por el trato que reciben los animales cautivos y domesticados, incluidos los salvajes, de laboratorio, de granja, de trabajo, de zoológico y de compañía (Webb *et al.*, 2019). El bienestar animal es una cuestión compleja y polifacética con dimensiones científicas, éticas, sociales, religiosas, culturales, políticas y económicas. Según el American College of Animal Welfare: "El bienestar animal se refiere al estado del animal. La evaluación del bienestar incluye la consideración de la salud, el comportamiento y la función biológica del animal"; por lo tanto, cualquier cosa que contribuya o demerite el estado normal de un animal afecta su bienestar (Castle *et al.*, 2016). Por otro lado, la salud se refiere al estado de los sistemas del cuerpo que combaten los patógenos, el daño tisular o los trastornos fisiológicos; en otras palabras, es el estado de un animal en relación con sus intentos de hacer frente a la patología. Como tal, es un componente importante del bienestar animal (Broom, 2011).

El proceso inflamatorio es un síndrome común a numerosas situaciones patológicas de los mamíferos. Da lugar a la respuesta local o sistémica del organismo frente a estímulos externos nocivos de tipo microbiano, químico o físico. La finalidad es eliminar el agente causante, así como, reparar el tejido dañado y mantener la homeostasis. Este proceso puede dividirse en dos fases: aguda, caracterizada por vasodilatación local y aumento de la permeabilidad capilar; y crónica, caracterizada por una mayor respuesta inmunitaria, degeneración tisular y fibrosis (Kumawat *et al.*, 2012). Durante la respuesta inflamatoria, se sintetizan y secretan mediadores pro y antiinflamatorios. Se trata de sustancias que tienen un efecto directo sobre las células inflamatorias y los vasos sanguíneos o que intervienen en reacciones que generan compuestos que actúan sobre estas células. Entre los mediadores inflamatorios y las vías celulares se encuentran las citocinas (por ejemplo, los interferones, las interleucinas y el factor de necrosis tumoral  $\alpha$ ), las quimiocinas (por ejemplo, la proteína 1 quimio-atrayente de monocitos), los eicosanoides (por ejemplo, las prostaglandinas y los leucotrienos) y el potente factor de transcripción  $\kappa$ B que modula la inflamación (Azab *et al.*, 2016). La mayoría de estas moléculas se derivan de los componentes fosfolípidos de las membranas celulares, que se liberan como resultado de su destrucción (Kumawat *et al.*, 2012).



A lo largo de los milenios, las plantas medicinales han sido utilizadas para el cuidado de la salud humana y animal, debido a que poseen una gran diversidad de metabolitos secundarios como terpenos, alcaloides y flavonoides que poseen diversas propiedades biológicas (Mayer *et al.*, 2014; Miara *et al.*, 2019; Starlin *et al.*, 2019). Además, la preferencia por el uso de plantas medicinales o fitofármacos obtenidos a partir de ellas, sigue aumentando debido a que carecen de efectos secundarios o estos son mínimos (Mayer *et al.*, 2014; Miara *et al.*, 2014; Starlin *et al.*, 2019; Laudato & Capasso, 2013).

El género *Salix*, perteneciente a la familia de las Salicáceas, se ha utilizado desde la antigüedad para el tratamiento de la fiebre, el dolor y la inflamación. Para estos fines, la corteza de *Salix alba* y *Salix nigra*; las flores de *Salix caprea* y las partes aéreas de *Salix canariensis*, demuestran una respuesta antiinflamatoria (Drummond *et al.*, 2013; Gutiérrez *et al.*, 2017; Sharma *et al.*, 2011; Gyawal *et al.*, 2013; Ahmed *et al.*, 2011).

*Salix babylonica*, comúnmente conocido como sauce llorón, es la especie más reconocida de los sauces, distribuida en algunas zonas de Asia, Europa y América. Se ha utilizado como planta ornamental y medicinal (González-Alamilla *et al.*, 2019). En la medicina tradicional, la ingesta de una infusión de hojas de sauce llorón permite aliviar el dolor, ya sea reumático, muscular, de cabeza, de oídos, de muelas, entre otros (Waizel-Bucay, 2011). Así, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad antiinflamatoria in vivo de un extracto hidroalcohólico de hojas de *Salix babylonica* e identificar los compuestos responsables de esta actividad.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Consideraciones generales

Los disolventes se eliminaron con un evaporador rotativo Büchi (Flawil, Suiza). La acetona, el acetato de etilo, el etanol, el 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) y la indometacina se adquirieron en Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, EE.UU.).

### Material vegetal

Las hojas de *Salix babylonica* fueron recolectadas durante el periodo de junio-agosto de 2018 en Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México (20°50'09" N 98°21'48" O). Para la identificación de las plantas se consultó el Herbario de la UNAM (Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México) y el espécimen vegetal se identificó como *Salix babylonica* L. (IBUNAM: MEXU: 9744). El material vegetal se secó en condiciones de oscuridad a temperatura ambiente durante tres semanas. Posteriormente, el material vegetal se molió en una licuadora eléctrica.



## Preparación del extracto

El material seco y molido (1.5 kg) se extrajo por maceración con etanol: agua (60:40 v/v) por un periodo de 1 d y se repitió tres veces. Todas las extracciones se realizaron utilizando proporciones 1:3 de material vegetal/disolvente. El disolvente se eliminó mediante destilación a presión reducida con un rotavapor. El extracto se almacenó a 4° C, hasta su utilización.

## Actividad antiinflamatoria

La actividad antiinflamatoria del extracto y las fracciones se estudió por el método de inflamación aguda en orejas de ratón inducida con TPA según lo descrito por [Rivero-Pérez et al., \(2016\)](#). Se agruparon ratones CD-1 machos adultos con un peso corporal de 20-25 g (cinco individuos por grupo). Los ratones se mantuvieron en condiciones estándar de laboratorio a 22 °C ± 3 °C, 70 % ± 5 % de humedad, ciclo de luz/oscuridad de 12 h y comida/agua *ad-libitum*. Se permitió que los ratones se adaptaran al entorno del laboratorio durante al menos 1 semana antes de iniciar los experimentos. Los experimentos se realizaron de acuerdo con los Lineamientos de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 (Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio), y el protocolo fue aprobado por el Comité Institucional de Lineamientos Éticos para el Cuidado y Uso de Animales de Experimentación de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (ICSa/CIEQUAL/001/2018).

La inflamación de la oído de los animales se indujo con 2.5 µg de TPA disueltos en 20 µL de acetona aplicados en la superficie interna y externa del oído derecho para provocar edema. Se aplicaron tópicamente dosis de muestra de 3,2 y 1 mg/oreja de los extractos y fracciones, respectivamente. El fármaco antiinflamatorio Indometacina se utilizó como control positivo y se administró a 0,5 mg/oreja. El SBHE y el AFSB se disolvieron en agua destilada, el AEFBS en EtOH:agua (1:1 v/v) y la Indometacina en acetona. Un grupo de control negativo recibió acetona, y otro EtOH:agua (1:1 v/v) como vehículo. Todos los tratamientos se aplicaron por vía tópica en la oreja derecha inmediatamente después de la aplicación de TPA. Seis horas después de la aplicación de las dosis, los animales de cada tratamiento fueron sacrificados por dislocación cervical. Se tomaron secciones circulares de 6 mm de diámetro tanto de las orejas tratadas (t) como de las no tratadas (nt), que se pesaron para determinar la inflamación.

El porcentaje de inhibición se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Inhibición \%} = \left( \Delta w_{\text{control}} - \Delta w_{\text{tratamiento}} \right) \frac{\Delta w_{\text{tratamiento}}}{\Delta w} \times 100$$

Donde  $\Delta w = wt - wnt$ , siendo  $wt$  el peso de la sección de la oreja tratada y  $wnt$  el peso de la sección de la oreja no tratada.



## Análisis histológico

Tras la eutanasia de los ratones, se tomó una muestra circular de cada oreja (6 mm) y se fijaron por inmersión en formaldehído al 3,8 %, en solución acuosa, tamponada con fosfato, durante 24 horas. Posteriormente, las muestras se procesaron por el método de inclusión en parafina utilizando un procesador de tejidos Microm automatizado, modelo TP1020, se cortaron en un micrótopo Leica modelo 2125RT a 4  $\mu$ m de grosor y se colorearon con la técnica de hematoxilina-eosina (HE) (Prophet et al., 1995). Las preparaciones histológicas resultantes se observaron y analizaron con un microscopio compuesto de campo claro Olympus, modelo BX41. Se seleccionó una zona representativa y posteriormente se evaluó cualitativamente la gravedad de la inflamación en función de la infiltración de células inflamatorias. Las imágenes seleccionadas se capturaron con una cámara digital MediaCybernetics, modelo Evolution VF, utilizando el software Image-Pro Express 6.0 (MediaCybernetics), instalado en un ordenador de la marca Vaio con procesador Pentium 4 y 1 GB de RAM.

## Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de la prueba farmacológica se sometieron a análisis de la varianza, seguidos de pruebas de Tukey, utilizando el programa SAS, versión 9.0 (SAS, 2006).  $P < 0,01$  se consideró significativamente diferente.

## RESULTADOS

### Actividad antiinflamatoria *in vivo*

Se evaluó la capacidad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de hojas de *Salix babylonica* (HESB), y de sus fracciones menos complejas AFSB y EAFSB en el modelo de edema auricular inducido por TPA en ratones a dosis de 3,2 y 1 mg/oreja, respectivamente. Todos los tratamientos fueron significativamente diferentes ( $P < 0,01$ ) con el grupo control negativo, y la HESB y la EAFSB no mostraron diferencias estadísticas significativas con el fármaco de referencia (indometacina) ni entre ellos (Tabla 1).

**Tabla 1. Actividad antiinflamatoria de los extractos y fracciones de las hojas de *Salix babylonica***

Tratamiento	Dosis (mg/oreja)	% de inhibición de la inflamación $\square$ EEM
Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>S. babylonica</i> (SBHE)	3.2	66.92 $\pm$ 3.20 <sup>a</sup>
Fracción acuosa de SBHE (AFSB)	1	30.64 $\pm$ 3.03 <sup>b</sup>
Fracción orgánica de from SBHE (EAFSB)	1	67.08 $\pm$ 7.15 <sup>a</sup>
Indometacina	0.5	79.54 $\pm$ 6.16 <sup>a</sup>
Control negativo	0	0 <sup>c</sup>

Diferentes literales en la columna muestran diferencias significativas ( $P \leq 0,01$ ) entre los compuestos evaluados. EEM: error estándar de la media.



## Análisis histológico

La aplicación tópica de TPA durante 6 horas, indujo una respuesta inflamatoria aguda a nivel de la dermis de la oreja de los ratones y se observó un marcado aumento de la población de neutrófilos (Figura 1). No se observaron cambios en la epidermis. Además, cuando sólo se aplicó acetona (vehículo del TPA), no se observó esta reacción, sino que se mantuvo el aspecto normal de la dermis, especialmente entre las fibras de colágeno y los fibrocitos/fibroblastos. Del mismo modo, la aplicación de indometacina, extracto hidroalcohólico de *Salix babylonica* (HESB) y fracción de acetato de etilo (EAFSB) obtenida de HESB, inhibió una respuesta inflamatoria aguda, evidenciada por la escasa población de células inflamatorias, particularmente neutrófilos, asociadas a la dermis de la piel de la oreja (Figura 2).

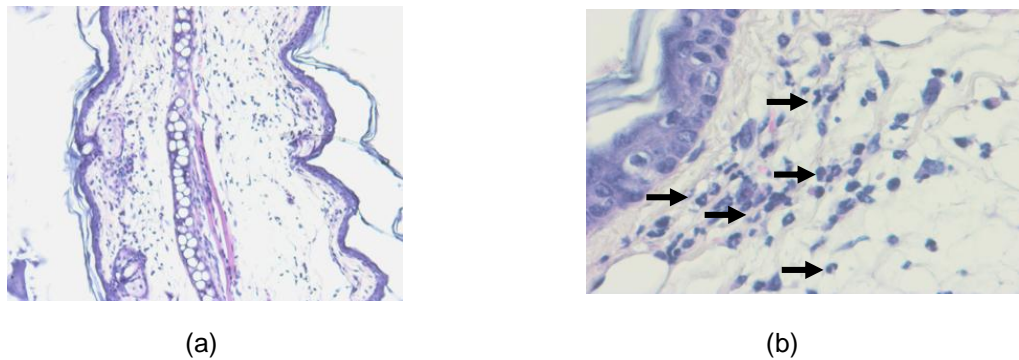


Figura 1. Piel de la oreja de ratón. H-E. 100x (a) y 400x (b). Efecto del TPA, sin adición de antiinflamatorios. Hay un marcado aumento de neutrófilos en la dermis (flechas, representativas de al menos 40 células en el campo)

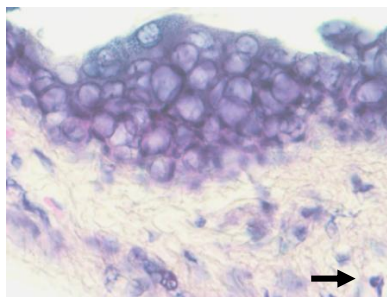


Figura 2. Piel de la oreja de ratón. H-E. 400x. Aplicación de la fracción orgánica del extracto hidroalcohólico de *S. babylonica*. Como puede observarse, la presencia de células inflamatorias en la dermis es mínima (flecha)



## DISCUSIÓN

Según el Código Terrestre de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), por bienestar animal se entiende el estado físico y mental de un animal en relación con las condiciones en que vive y muere. Los principios rectores que informan el trabajo de la OIE sobre el bienestar de los animales terrestres incluyen las "Cinco Libertades"; que describen las expectativas de la sociedad respecto a las condiciones que deben experimentar los animales cuando están bajo control humano, a saber: libres de hambre, desnutrición y sed; libres de miedo y angustia; libres de estrés térmico o incomodidad física; libres de dolor, lesiones y enfermedades; y libres de expresar patrones normales de comportamiento (OIE, 2019).

La inflamación, respuesta de un organismo a una irritación o lesión, se caracteriza por enrojecimiento, calor, hinchazón y dolor. Los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) se utilizan para el tratamiento de enfermedades inflamatorias. Estos compuestos afectan a la función o producción de prostaglandinas. En medicina veterinaria, los AINE se utilizan para controlar, entre otras dolencias, el dolor y la inflamación asociados a la artrosis en perros y caballos; así como, para el dolor postoperatorio en perros y gatos. Sin embargo, existen riesgos potenciales asociados al uso de AINE, como úlceras/perforaciones gastrointestinales y toxicidad hepática y renal (Mathews *et al.*, 2014). Por lo tanto, la búsqueda de nuevos compuestos con una reacción antiinflamatoria, sin los efectos secundarios de los AINE, es de vital importancia para el mantenimiento del bienestar animal. El uso de plantas medicinales es una alternativa para el tratamiento del dolor y la inflamación en animales.

Se ha demostrado que las plantas son fuentes muy ricas de metabolitos de interés estructural y biológico. Se ha evaluado la actividad biológica potencial de menos del 10% de la biodiversidad mundial, y muchos más compuestos líderes naturales útiles esperan ser descubiertos (Gyawali *et al.*, 2013). Además, el interés mundial por los productos a base de plantas ha crecido considerablemente. El ganado vacuno, los caballos, las ovejas, las cabras y los cerdos representan alrededor del 70 % de los animales tratados con remedios a base de plantas, seguidos de las aves de corral (9,1 %), los perros (5,3 %) y los conejos (4,3 %) (Laudato & Capasso, 2013).

En cuanto al uso de plantas para el tratamiento del proceso inflamatorio en animales, *Geranium robertianum*, *Artemisia abrotanum*, *Brassica oleracea*, *Avena sativa*, *Anagallis arvensis*, *Linum usitatissimum*, *Scrophularia canina*, *Hypericum perforatum*, *Achillea millefolium* y *Buxus sempervirus* se utilizan para tratar o prevenir la mastitis en el ganado vacuno debido a su efecto antiinflamatorio (Mayer *et al.*, 2014; Laudato & Capasso, 2013). Además, el *Aloe* spp. se ha utilizado para el tratamiento de la inflamación, los dolores y el picor en varios animales; mientras que el diente de león y las semillas de lino se han



empleado para el tratamiento de la inflamación de las glándulas perianales en perros (Laudato & Capasso, 2013). *Rosa canina*, *Matricaria chamomilla*, *Glycyrrhiza glabra*, *Aegle marmelos*, *Asparagus racemosus* Wild, *Argemone mexicana* Linn, *Datura metal* Linn, *Eclipta prostrata* Linn, *Moringa oleifera* Lamk, *Syzygium cumini*, *Allium cepa*, *Nerium oleander* L, *Anacyclus davatus*, *Mentha pulegium* L, *Lawsonia inemis* L, *Olea europaea* L, *Ziziphus lotus* L, *Ruta graveolens* y *Ziziphus jujuba* Linn, se utilizan para el tratamiento de diferentes enfermedades inflamatorias en ovinos, bovinos, caprinos, conejos y aves de corral (Miara *et al.*, 2019; Laudato & Capasso, 2013; Verma, 2014).

El género *Salix* se ha utilizado en el tratamiento de la artritis; dolores menstruales, dentales y de espalda; fiebres e inflamaciones. Los sauces pertenecen a la familia Salicaceae y los registros de su uso medicinal se remontan a unos 6.000 años (Drummond *et al.*, 2013; Gutiérrez *et al.*, 2017; Gyawali *et al.*, 2013). *Salix babylonica* ha demostrado actividad antihelmíntica, antiséptica, analgésica, antipirética, antipalúdica, antioxidante, anticancerígena, astringente, antifúngica y antibacteriana (González-Alamilla *et al.*, 2019; Abdel Wahab *et al.*, 2018). En este trabajo se evaluó la actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de hojas de *S. babylonica* y se encontró que inhibió la inflamación en un  $66,92 \pm 3,20$  %, sin diferencias estadísticas significativas con respecto al fármaco de referencia, indometacina (Tabla 1).

Existen algunos reportes respecto al efecto antiinflamatorio de extractos obtenidos de otras especies de *Salix*; por ejemplo, Gyawali *et al.* (2013), que evaluaron la capacidad antiinflamatoria de un extracto metanólico de corteza de *Salix alba* utilizando el modelo de edema de pata inducido por formalina en ratas, y encontraron una inhibición de la inflamación del 74 % a una dosis de 93,5 mg/Kg. Asimismo, un extracto acuoso de partes aéreas de *S. canarensis*, obtenido por infusión, a una dosis de 105 mg/Kg, provocó una inhibición de la inflamación del 78% en el mismo modelo (Gutiérrez *et al.*, 2017). Por otro lado, Ahmed *et al.*, (2011) evaluaron los efectos antiinflamatorios de los extractos metanólico e hidroalcohólico de flores de *S. caprea* a 400 µg/mL, utilizando el método de estabilización de membranas de glóbulos rojos humanos (HRCB), y encontraron que este extracto mostró un 66,78 y 60,49 % de protección de membranas, respectivamente. Sin embargo, estos resultados no pueden ser comparados directamente con los obtenidos en este trabajo para el extracto hidroalcohólico de *S. babylonica* (HESB), debido a que los extractos evaluados son de diferente polaridad, obtenidos por diferentes métodos y evaluados en diferentes modelos farmacológicos.

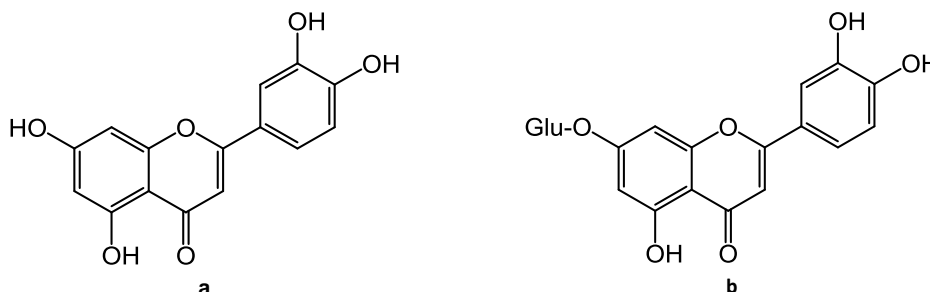
Para identificar la naturaleza química de los compuestos activos en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *S. babylonica*, se realizó un procedimiento de bipartición con los disolventes agua y acetato de etilo. Se evaluó la capacidad de la fracción acuosa de SBHE (AFSB) y la fracción orgánica de SBHE (EAFSB) para inhibir la inflamación *in vivo*. Como se muestra en la Tabla 1, EAFSB ( $66,92 \pm 3,20$  % de inhibición de la





inflamación (% II)) fue más activa que AFSB ( $30,64 \pm 3,03$  %II), sin diferencia estadística significativa con respecto al extracto SBHE, y la dosis efectiva fue tres veces menor. Además, EAFSB no presentó diferencias estadísticas significativas con el fármaco de referencia Indometacina. Estos resultados nos sugirieron que los compuestos antiinflamatorios de *Salix babylonica* se encontraban en la fracción orgánica.

Previamente, identificamos las flavonas luteolina (Figura 3a) y luteolósido (luteolina 7-O-glucósido) (Figura 3b) como los principales componentes de la fracción de acetato de etilo obtenida por bipartición a partir del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Salix babylonica* (González-Alamilla *et al.*, 2019).



**Figura 3. Estructura química de los flavonoides identificados como componentes principales de la EAFSB. (a) luteolina (3',4',5,7-tetrahidroxiflavona) y (b) luteolósido (3',4',5,7tetrahidroxiflavona-7-O-glucósido)**

La luteolina es una 3',4',5,7-tetrahidroxiflavona, un tipo de flavonoide con un doble enlace entre C2 y C3, y un grupo carboxilo en la posición 4 del anillo C. La luteolina se ha aislado de verduras, frutas y plantas medicinales. Existen informes que evidencian su actividad antioxidante, antimicrobiana, antidiabética, quimio protectora, quimioterapéutica, neuro protectora, antialérgica y antiinflamatoria. Además, esta molécula se considera no tóxica (González-Alamilla *et al.*, 2019; Aziz *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018). En cuanto a las respuestas antiinflamatorias, la luteolina suprime la expresión de citocinas proinflamatorias, incluyendo la interleucina (IL)-6, IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-8, IL-12, IL17, TNF- $\alpha$ , interferón (INF)- $\beta$ , factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos y aumenta el nivel de la citocina antiinflamatoria IL-10. También inhibe la inducción de la sintasa de oxígeno nítrico (iNOS) y su expresión activa, así como la producción de NO, ROS y quimiocinas. Éstas ayudan a controlar la migración y el posicionamiento de las células inmunitarias, como la quimioquina (motivo C-X-C) ligando 2 (CXCL2), la quimioquina (motivo C-C) ligando 2 (CCL2), CXCL9 y CXCL8 (IL-8). Además, también inhibe la producción y liberación de eicosanoides, prostaglandinas y leucotrienos, así como de moléculas de adhesión proinflamatorias como la proteína-1 quimioatrayente de monocitos (MCP-1), la molécula-1 de adhesión intercelular (ICAM) y la molécula-1 de adhesión de células vasculares (VCAM). Del mismo modo, previene la vía NF- $\kappa$ B, la proteína quinasa B (AKT) y la vía de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK);



la actividad de la hialuronidasa y la elastasa; la estabilización de los mastocitos; la reducción de la permeabilidad vascular; modulación de la fluidez de la membrana celular, enzimas antioxidantes activas e impide que el adenosín trifosfato (ATP) se una a la tirosina quinasa del bazo (Syk) o al proto-oncogén tirosina-proteína quinasa (Aziz *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2019). Además, luteolina 7-O-glucósido (luteoloside) posee actividad antiinflamatoria también, este flavonoide inhibe la liberación de  $\beta$ -hexosaminidasa (un marcador de degranulación en mastocitos), leucotrieno C4 (LTC4), producción de NO y PGE2; así como, la actividad enzimática de COX-2 e iNOS. Además, el luteoloside es un potente inhibidor de JNK3, una proteína quinasa de la familia MAPK que se activa potentemente por una variedad de estrés ambiental y citoquinas proinflamatorias (Aziz *et al.*, 2018).

Por otro lado, la aplicación tópica de TPA en las orejas de ratones produjo edema con sus síntomas típicos: hinchazón, aumento del grosor e infiltración de células proinflamatorias como neutrófilos, leucocitos y linfocitos. Estas células son los componentes clave que se infiltran primero en el sitio de la inflamación y promueven las funciones de defensa del huésped y se agregan y se unen a las paredes de los vasos sanguíneos en el rango de 4 a 6 h después de la aplicación de TPA (Hernandez-Valle *et al.*, 2014; Mendes *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2017). En el presente estudio, las muestras para el análisis histológico se recogieron 6 h después de la estimulación con TPA, como se muestra en la figura 1. El TPA generó edema, extravasación de fluidos y aumento de neutrófilos en la dermis. Cuando se aplicó indometacina, un fármaco antiinflamatorio esteroideo ampliamente utilizado como validación del modo farmacológico, la inflamación local disminuyó; se observó un resultado similar en los animales que recibieron tratamiento con extracto hidroalcohólico SBHE o EAFSB (fig. 2). En otras palabras, SBHE y EAFSB indujeron la misma respuesta en comparación con el fármaco de control. En conclusión, el análisis histológico de las orejas de ratón teñidas con H-E muestra que *Salix babylonica* suprime la infiltración de células en el lugar de la inflamación inducida por TPA.

## CONCLUSIONES

El extracto hidroalcohólico SBHE de hojas de *Salix babylonica* y sus fracciones AFSB y EAFSB muestran actividad antiinflamatoria, siendo EAFSB la fracción más activa. Anteriormente, informamos de que el análisis químico de la fracción EAFSB mediante HPLC reveló la presencia de los flavonoides luteolina y luteolósido (luteolina-7-O-glucósido) como compuestos principales. En consecuencia, el efecto antiinflamatorio mostrado por las hojas de *S. babylonica* podría atribuirse a la presencia de esos compuestos antiinflamatorios. El análisis histológico de las orejas tratadas con *S. babylonica* sugiere que éstas regulan a la baja la migración de neutrófilos patógenos hacia el lugar de la inflamación, disminuyendo la producción de citoquinas inflamatorias.



Finalmente, nuestros resultados muestran que *S. babylonica* son capaces de disminuir la inflamación y podrían servir como una valiosa alternativa para el tratamiento de procesos inflamatorios en animales.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo financiero de la Secretaría de Investigación de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH).

Conflictos de intereses: Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

### LITERATURA CITADA

ABDEL WAHAB G, Sallam A, Elgaml A, Lahloub MF, Afifi MS. 2018. Antioxidant and antimicrobial activities of *Salix babylonica* extracts. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*. 6(4):1–6. ISSN: 2321-3086.

<https://www.wjpsonline.org/admin/uploads/Z3D48w.pdf>

AHMED A, Shah W, Akbar S, Kumar D, Kumar V, Younis M. 2011. *In-vitro* anti-inflammatory activity of *Salix caprea* linn. (goat willow) by HRBC membrane stabilization method. *Journal of Pharmacy Research*. 4(4):1067–1068. ISSN: 0974-6943.

<http://jprsolutions.info/newfiles/journal-file-56d274fdc5d1e9.78679338.pdf>

AZAB A, Nassar A, Azab AN. 2016. Anti-inflammatory activity of natural products. *Molecules*. 21(10):1–19. ISSN:1420-3049. <https://doi.org/10.3390/molecules21101321>

AZIZ N, Kim MY, Cho JY. 2018. Anti-inflammatory effects of luteolin: a review of *in vitro*, *in vivo*, and *in silico* studies. *Journal of Ethnopharmacology*. 225 (May): 342–358. ISSN: 0378-8741. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.05.019>

BROOM D. 2011. Animal Welfare: Concepts, Study Methods and Indicators. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 24(3):306–321. ISSN: 2256-2958. <https://revistas.udea.edu.co/index.php/rccp/article/view/324688/20782027>

CASTLE K, Gillin C, Hernandez S, Justice-Allen A, Lamberski N, Nichols M, Wolff P. 2016. Advances in animal welfare for free-living animals. *Journal of Wildlife Diseases*. 52(2): S4–S13. ISSN: 0090-3558. <https://doi.org/10.7589/52.2S.S4>

DRUMMOND EM, Harbourne N, Marete E, Martyn D, Jacquier JC, O’Riordan D, Gibney ER. 2013. Inhibition of proinflammatory biomarkers in THP1 macrophages by polyphenols derived from Chamomile, Meadowsweet and Willow Bark. *Phytotherapy Research*. 27(4): 588–594. ISSN: 1099-1573. <https://doi.org/10.1002/ptr.4753>



GONZÁLEZ-ALAMILLA EN, Gonzalez-Cortazar M, Valladares-Carranza B, Rivas-Jacobo MA, Herrera-Corredor CA, Ojeda-Ramírez D, Zaragoza-Bastida A, Rivero-Perez, N. 2019. Chemical Constituents of *Salix Babylonica* L. and Their Antibacterial Activity Against Gram-Positive and Gram-Negative Animal Bacteria. *Molecules*. 24 (16):2992. ISSN:1420-3049. <https://doi.org/10.3390/molecules24162992>

GUTIÉRREZ SD, Kuri SA, Martín-Herrera D. 2017. The bioguided fractionation and pharmacological activity of an endemic *Salix canariensis* species. *Acta Pharmaceutica*. 67(2):265–273. ISSN: 1846-9558. <https://doi.org/10.1515/acph-2017-0012>

GYAWALI R, Bhattarai P, Dhakal S, Jha B, Sharma S, Poudel PN. 2013. Analgesic and anti-inflammatory properties of *Salix alba* Linn and *Calotropis procera* (Aiton) Dryand. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*. 4(5):873–877. ISSN: 0976-3333. <https://www.ijpba.info/ijpba/index.php/ijpba/article/view/1129>

HERNÁNDEZ-VALLE E, Herrera-Ruiz M, Salgado GR, Zamilpa A, Ocampo MLA, Aparicio AJ, Tortoriello J, Jiménez-Ferrer E. 2014. Anti-inflammatory effect of 3-O-[(6'-O-palmitoyl)- $\beta$ -D-glucopyranosyl sitosterol] from *Agave angustifolia* on ear edema in mice. *Molecules*. 19 (10): 15624–15637. ISSN: 1420-3049. <https://doi.org/10.3390/molecules191015624>

KUMAWAT R, Sharma S, Vasudeva N, Kumar S. 2012. *In vivo* anti-inflammatory potential of various extracts of *Sida tiagii* Bhandari. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2(2SUPPL.):S947–S952. ISSN: 2221-1691. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60342-6](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60342-6)

LAUDATO M, Capasso R. 2013. Useful plants for animal therapy. *OA Alternative Medicine*. 1 (1):1–6. ISSN: 2052-7845. <https://doi.org/10.13172/2052-7845-1-1-327>

LI L, Luo W, Qian Y, Zhu W, Qian J, Li J, Jin Y, Xu X, Liang G. 2019. Luteolin protects against diabetic cardiomyopathy by inhibiting NF-KB-mediated inflammation and activating the Nrf2-mediated antioxidant responses. *Phytomedicine*. 5:152774. ISSN: 0944-7113. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.11.034>

MATHEWS K, Kronen PW, Lascelles D, Nolan A, Robertson S, Steagall PV, Wright B, Yamashita K. 2014. Guidelines for recognition, assessment and treatment of pain. *Journal of Small Animal Practice*. 6(3):164–173. ISSN: 224510. <https://doi.org/10.1111/jsap.12200>

MAYER M, Vogl CR, Amorena M, Hamburger M, Walkenhorst M. 2014. Treatment of organic livestock with medicinal plants: a systematic review of European ethnoveterinary research. *Forschende Komplementärmedizin = Research in complementary medicine*. 21 (6): 375–386. ISSN: 1661-4127. <https://doi.org/10.1159/000370216>



MENDES DAGB, Soley B da S, Prudente A da S, Sponchiado G, Ferreira BGA, dos Santos MC, de Andrade ASM, Amorim C de M, Bresolin TMB, Meyre-Silva C.; et al. 2016. Hydroalcoholic extract of *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax displays potent anti-inflammatory activities through a glucocorticoid receptor-dependent pathway. *Phytomedicine*. 23(13):1610–1620. ISSN: 0944-7113.  
<https://doi.org/10.1016/j.phymed.2016.10.003>

MIARA MD, Bendif H, Ouabed A, Rebbas K, Ait Hammou M, Amirat M, Greene A, Teixidor-Toneu I. 2019. Ethnoveterinary remedies used in the Algerian steppe: exploring the relationship with traditional human herbal medicine. *Journal of Ethnopharmacology*. 44(August):112164. ISSN: 0378-8741. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112164>

OIE (World Organization for Animal Health). Animal welfare.  
<https://www.oie.int/en/animal-welfare>

PROPHET EB, Mills B, Arrington J, Sobón L. 1995. *Métodos Histotecnológicos*. Washington, DC, USA: Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América, Washington DC, Registro de Patología de los Estados Unidos de América (ARP) e Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (AFIP). Pp. 280. ISBN: 1881041212 9781881041214.

RIVERO-PEREZ N, Ayala-Martinez M, Zepeda-Bastida A, Meneses-Mayo M, Ojeda-Ramirez D. 2016. Anti-inflammatory effect of aqueous extracts of spent *Pleurotus ostreatus* substrates in mouse ears treated with 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *Indian Journal of Pharmacology*. 48 (2):141–144. ISSN: 0253-7613.  
<https://doi.org/10.4103/0253-7613.178826>

SAS INSTITUTE. 2006. *Statistical Analysis Software SAS/STAT®*. Ver 9.0, Cary, N.C., USA: SAS Institute Inc., ISBN: 978-1-60764-599-3.

SHARMA S, Sahu D, Das HR, Sharma D. 2011. Amelioration of collagen-induced arthritis by *Salix nigra* bark extract via suppression of pro-inflammatory cytokines and oxidative stress. *Food and Chemical Toxicology*. 49(12):3395–3406. ISSN: 0278-6915.  
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.08.013>

SILVA JB da, Mendes R de F, Tomasco V, Pinto N de CC, de Oliveira LG, Rodrigues M N, Aragão DM de O, Aguiar JAK de, Alves MS, Castañón MCNM.; et al. 2017. New aspects on the hepatoprotective potential associated with the antioxidant, hypocholesterolemic and anti-inflammatory activities of *Vernonia condensata* baker. *Journal of Ethnopharmacology*. 198:399–406. ISSN: 0378-8741.  
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.01.039>



STARLIN T, Saravana Prabha P, Thayakumar BKA, Gopalakrishnan VK. 2019. Screening and GC-MS profiling of ethanolic extract of *Tylophora pauciflora*. *Bioinformation*. 15 (6):425–429. ISSN: 0973-2063. <https://doi.org/10.6026/97320630015425>

VERMA RK. 2014. An ethnobotanical study of plants used for the treatment of livestock diseases in Tikamgarh district of Bundelkhand, Central India. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 4(Supp 1): S460–S467. ISSN: 2221-1691. <https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014C1067>

WAIZEL-BUWAY J. 2011. Plantas y compuestos importantes para la medicina: los sauces, los salicilatos y la aspirina. *Revista de Fitoterapia*. 11 (1): 61–75. ISSN: 1576-0952. [https://www.fitoterapia.net/php/descargar\\_documento.php?id=4456&doc\\_r=sn&num\\_volumen=28&secc\\_volumen=5961](https://www.fitoterapia.net/php/descargar_documento.php?id=4456&doc_r=sn&num_volumen=28&secc_volumen=5961)

WEBB LE, Veenhoven R, Harfeld JL, Jensen MB. 2019. What Is Animal Happiness? *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1438(1):62–76. ISSN: 1749-6632. <https://doi.org/10.1111/nyas.13983>

ZHANG BC, Li Z, Xu W, Xiang CH, Ma YF. 2018. Luteolin alleviates NLRP3 inflammasome activation and directs macrophage polarization in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 cells. *American Journal of Translational Research*. 10 (1):265–273. ISSN: 1943-8141. <http://www.ajtr.org/files/ajtr0067047.pdf>

#### [Errata Erratum](#)

<https://abanicoacademico.mx/revistasabanico-version-nueva/index.php/abanico-veterinario/errata>