EsSalud

Comunicación Corta
REVISTA PERUANA DE MEDICINA INTEGRATIVA
ISSN: 2415 - 2692

Efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de la corteza de *Tabebuia impetiginosa (Mart. ex DC.)* Standley, guayacán, en ratas

Marcelino Sarmiento-Campos[1a]; Jorge Arroyo-Acevedo[2,3 b]; Arilme Gorriti Gutiérrez[5 a]; Martín Condorhuamán-Figueroa [5 c]

Información del artículo

Historia del artículo
Recibido: 15/04/2018
Aprobado: 26/05/2018

Autor corresponsal
Marcelino Sarmiento-Campos
Calle Talara 252, Santiago de Surco. Lima-Perú.
01 278-0996
labmarcel1@hotmail.com

Financiamiento
Autofinanciado por los autores y colaboradores

Conflictos de interés
Ninguno

Citar como
Sarmiento-Campos M; Arroyo-Acevedo J; Gorriti Gutiérrez A; Condorhuamán-Figueroa M. Efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de la corteza de *Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex DC.) Standley, Guayacán, en ratas. Rev Peru Med Integrativa.2018;3(2):98-103.

Resumen

Objetivos. Evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de corteza de *Tabebuia impetiginosa* (Mart. Ex. DC) Standley, guayacán, en un modelo *in vivo* en ratas. ***Materiales y Métodos.*** Se utilizaron 36 ratas repartidas en seis grupos. Se preparó el extracto macerando 100 g de cortezas de *Tabebuia impetiginosa*, durante siete días. Al grupo I se administró suero fisiológico al 0,9 % (2 mL/kg); grupo II: ibuprofeno (20 mg/kg); Grupo III: dexametasona (20 mg/kg); Los grupos IV, V y VI de extracto etanólico de *Tabebuia impetiginosa* (Mart. Ex. DC) Standley, guayacán, en dosis de 50 mg/kg, 250 mg/kg y 500 mg/kg, respectivamente. A los 30 min se aplicó 0,2 mL de carragenina en la pata izquierda de las ratas, para inducir la inflamación. Se midió el diámetro de las patas en milímetros en tiempos de 1, 4 y 14 horas. ***Resultados.*** Presencia de antraquinonas, compuestos fenólicos, flavonoides, saponinas esteroidales y taninos. Además, se observan indicios de efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de *Tabebuia impetiginosa* a 250 mg/kg, sin ser concluyentes. ***Conclusión.*** El extracto etanólico de la corteza de *Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex DC.) Standley, guayacán, en dosis de 250 mg/kg puede tener efecto antiinflamatorio en un modelo murino de inflamación aguda con carragenina.

Palabra clave: *Tabebuia impetiginosa; Antiinflamatorios; Experimentación Animal; Carragenina (Fuente: DeCS)*

Anti-inflammatory effect of the ethanolic extract of the BARK OF *Tabebuia impetiginosa (Mart. Ex DC.)* Standley, guayacán in rats

Abstract

Objective. To evaluate the anti-inflammatory effect of the Tabebuia impetiginosa (Mart. Ex. DC) Standley bark ethanolic extract on in vivo model (rats). ***Materials and methods.*** The extract was prepared by maceration of *Tabebuia impetiginosa* barks (100 g) for seven days. 36 rats were divided into six groups: Group I: Saline Solution 0.9% (2 mL / kg); Group II: ibuprofen (20 mg / kg); Group III: dexamethasone (20 mg / kg); Groups IV, V and VI: *Tabebuia impetiginosa* (Mart. Ex. DC) Standley ethanolic extract, in doses of 50 mg / kg, 250 mg / kg and 500 mg / kg, respectively. After 30 min, carrageenan 0.2 mL was applied to the left leg of the rats to induce inflammation. The diameter of the legs was measured in millimeters at 1, 4 and 14 hours. ***Results.*** Anthraquinones, phenolic compounds, flavonoids, steroidal saponins and tannins were detected. Anti-inflammatory effect of *Tabebuia impetiginosa* ethanolic extract was observed at dosis of 250 mg / kg, without being conclusive. ***Conclusion.*** The ethanolic extract of *Tabebuia impetiginosa* (Mart.ex DC.) Standley, (guayacán) bark, in a dose of 250 mg / kg would have an anti-inflammatory effect in an experimental model of acute inflammation with carrageenan.

Keywords: *Tabebuia impetiginosa; Anti-Inflammatory Agents; Animal Experimentation; Carrageenan (Source: MeSH)*

[1] Unidad de Posgrado Facultad Farmacia y Bioquímica Universidad Nacional de San Marcos. Lima, Perú
[2] Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
[3] Laboratorio de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
[4] Instituto de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
[a] Maestría en Recursos Naturales y Terapéuticos

Introducción

La terapia con especies vegetales fue la base de la medicina tradicional desde la aparición del hombre en la tierra, su aporte a través del tiempo se heredó de generación en generación y, en la actualidad, es materia de investigación para obtener nuevos fármacos [1]. Las plantas medicinales en extractos, infusiones, ungüentos, cremas, comprimidos, cápsulas u otras formas especiales, pueden emplearse en el tratamiento de enfermedades y muestran múltiples efectos terapéuticos [2].

Dentro de estos efectos, gran parte de la investigación científica se ha abocado a la búsqueda de plantas con efectos antiinflamatorios, básicamente debido a la disminución de la eficacia de las alternativas farmacológicas actuales y sus efectos secundarios, y los resultados promisorios de los estudios de investigación (mayormente preclínicos) obtenidos en algunas especies vegetales [3,4].

Numerosos estudios bioquímicos han mostrado el papel de las plantas medicinales en la inhibición de citoquinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α) [5], o las prostaglandinas E2 (PGE2) [6]. Asimismo, se ha encontrado que otro grupo de plantas medicinales puede llegar a bloquear selectivamente la acción de la enzima ciclooxigenasa-1 o 2 (COX-1 o COX-2) [7].

Tabebuia impetiginosa (Mart. Ex DC) Standley, guayacán, originaria de la selva tropical de América Central y Sudamérica [8], se utiliza tradicionalmente para tratar dolencias como úlceras, sífilis, candidiasis, diabetes y alergias [9]. Estudios previos han encontrado efectos antitumorales [10], antipiréticos [9], antimicrobianos [11] y en específico como antimalárico [12]. Estos efectos terapéuticos pueden atribuirse a la presencia de antraquinonas, compuestos fenólicos, flavonoides, saponinas esteroidales y taninos [13], los que estarían relacionados con efectos antioxidantes y citotóxicos. Por otro lado, otros estudios también han indicado la presencia de compuestos como lapachol y B-lapachone con gran actividad antitumoral y efectos proapoptóticos [9]. La mayoría de evidencia se ha desarrollado por medio de modelos *in vitro*; sin embargo, considerando el potencial terapéutico y la necesidad de continuar avanzando en las etapas de la investigación preclínica de compuestos derivados de esta especie, el objetivo del presente estudio es demostrar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de corteza de *Tabebuia impetiginosa* (mart. ex DC.) Standley, *guayacán,* en un modelo murino.

Materiales y métodos

Material vegetal

Muestras de *Tabebuia impetiginosa* (Mart. Ex DC) Standley, guayacán, fueron colectadas en el distrito de Juan Guerra, provincia de Tarapoto, departamento de San Martín, e identificado por el por el biólogo José Campos de la Cruz (C.B.P. 3797); autorizado mediante la resolución Directoral 011-2013 MINGRI-DGFFS-DGFFS según el sistema de clasificación taxonómica de Cronquist 1988.

Preparación del extracto [14]

El extracto etanólico fue preparado de la corteza del árbol de *Tabebuia impetiginosa,* macerado en etanol de 96° y protegido de luz y calor durante 7 días. Se filtró con papel Whatman 2 para ser secado en una estufa (40 °C) durante 48 h; el procesamiento se realizó en el Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Medicina de la UNMSM. El extracto obtenido se conservó en un envase ámbar y en refrigeración (5°) hasta su posterior uso reconstitución con agua destilada.

Estudio fitoquímico del extracto

Las pruebas se realizaron en el Laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, utilizando las reacciones de: cloruro férrico, Shinoda, gelatina, Lieberman-Buchard, Bertrand, Börntrager, Mayer, Wagner, Draggendorf, y afrosimétrico, con la finalidad de detectar la presencia de antraquinonas, compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, y saponinas /esteroideas [14].

Evaluación de efecto antiinflamatorio por inyección con carragenina

Para realizar la evaluación experimental antiinflamatoria, se utilizó el método estandarizado de Arroyo [15] con 36 ratas machos de la cepa Holtzmann, procedentes del Instituto Nacional de Salud, con un peso promedio entre 200 ± 25 g. Los animales de experimentación fueron aclimatados durante una semana en el Bioterio del Centro de Investigaciones de "San Fernando" de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Seguidamente, se agruparon en jaulas especiales a temperatura ambiente y ciclos luz/oscuridad de doce horas, con una alimentación *ad libitum*.

Para la intervención, las ratas fueron pesadas, marcadas y distribuidas de manera aleatoria en seis grupos de seis

ratas cada uno: Grupo I: Control negativo, que recibió suero fisiológico (0,9%); Grupo II: Control positivo, que recibió ibuprofeno 20 mg/kg; Grupo III: Control positivo, que recibió dexametasona 20 mg/kg; y los Grupos IV, V y VI, a los que se les suministró el extracto etanólico de *Tabebuia impetiginosa* (guayacán) en dosis de 50 mg/kg, 250 mg/kg y 500 mg/kg, respectivamente.

Treinta minutos después de la aleatorización, se aplicó 0,2 mL de λ-carragenina al 0,1% en la pata izquierda de las ratas (intraplantar), con lo que se provocó inflamación aguda, siguiendo el método de Winter *et al.* [16]. El diámetro de las patas inflamadas se midió con la ayuda de un micrómetro digital en milímetros (mm) a la hora, 4 h y 14 h. Las intervenciones experimentales fueron administradas vía sonda orogástrica a los animales de experimentación.

Todo el proceso se realizó bajo cumplimiento de las directrices de la Declaración de la Asociación Médica Mundial sobre el Uso de Animales en la Investigación Biomédica [17] y el protocolo de investigación fue presentado al Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la UNMSM, para su aprobación.

Análisis estadístico

Los resultados son presentados en medidas de resumen y tendencia central (media y desviación estándar) con apoyo de gráficos y tablas. La relación entre los diámetros y el tiempo de medición por grupos de estudio fue evaluada con el uso de ANOVA para muestras repetidas; mientras que la inclusión de la variable grupo de estudio fue evaluada con el uso de comparación intragrupo e intergrupos. Se consideró estadísticamente significativo un valor p menor a 0,05.

Resultados

Al realizar el análisis de los componentes fitoquímicos del extracto etanólico de *Tabebuia impetiginosa* (guayacán), se encontró una abundante cantidad de compuestos fenólicos, flavonoides y esteroles (Tabla 1).

Se observó un aumento significativo del diámetro en todos los grupos de estudio, en comparación a la medición basal ($p<0,05$); siendo el grupo control negativo el que presentó un mayor diámetro a las 4 h (10,6 ± 0,6 mm). Sin embargo, el grupo que recibió *Tabebuia impetiginosa* 500 mg/kg fue el que mostró un mayor incremento del diámetro al comparar las medidas antes-después de la intervención (1,9 ± 0,7 mm). Adicionalmente, si bien se realizó una distribución aleatoria de los animales de experimentación, se observaron diferencias significativas en cuanto a los pesos ($p<0,001$) (Tabla 2).

Al realizar el análisis de los diámetros obtenidos entre los grupos de interés considerando el factor tiempo, las diferencias de diámetros por tiempo también eran significativamente diferentes por cada grupo ($p=0,019$). Al evaluar la progresión de los valores del diámetro en el tiempo de estudio se puede observar que todos los grupos siguen el mismo ascendente hasta la hora 4 en donde se inicia la disminución de este parámetro (Gráfico 1).

Discusión

En el presente trabajo experimental se evaluó el efecto antiinflamatorio de la planta *Tabebuia impetiginosa* (Mart.

Tabla 1. Marcha fitoquímica del extracto etanólico de *Tabebuia impetiginosa* (guayacán)

Reacciones	Metabolito	Resultados
Rx. con Cl_3Fe	Compuestos fenólicos	+++
Rx. con Shinoda	Flavonoides	+++
Rx. con gelatina	Presencia de taninos	+
Rx. Lieberman-Buchard	Saponinas/Esteroides	+++
Rx. de índice afrosimétrico	Saponinas	+
Rx. con Börtranger	Antraquinonas	+
Rx. con Mayer	Alcaloides	-
Rx. de Bortranger	Alcaloides	-
Rx. de Wagner	Alcaloides	-
RX. con Draggendorf	Alcaloides	-

(++++) Muy abundante; (+++) Abundante; (++) Moderado; (+) Escaso; (-) Ausente.

Tabla 2. Efecto inflamatorio (mm) por grupos de estudio y horas de medición en inducción con carragenina

Grupo de estudio	Peso (g)	Diámetro basal (mm)	Diámetro 1 h (mm)	Diámetro 4 h (mm)	Diámetro 14 h (mm)	Valor p (tiempo)	Valor p (interacción tiempo/grupo)
Control negativo	269,3 ± 14,7	9,7 ± 1,2	8,2 ± 0,6	10,6 ± 0,6	10,1 ± 1,2	0,002	NA
Ibuprofeno 20 mg/kg	240,3 ± 5,0	6,7 ± 0,6	6,6 ± 0,6	7,9 ± 0,7	7,1 ± 0,5	0,009	
Dexametasona 20 mg/kg	235,2 ± 17,1	5,6 ± 0,4	6,6 ± 0,4	6,7 ± 0,5	6,0 ± 0,7	0,002	
Tabebuia impetiginosa 50 mg/kg	253,7 ± 4,1	8,1 ± 0,8	8,2 ± 0,2	9,9 ± 0,5	8,5 ± 0,6	0,001	0,019
Tabebuia impetiginosa 250 mg/kg	228,7 ± 9,7	7,4 ± 0,8	8,3 ± 0,6	9,1 ± 0,9	7,9 ± 0,6	0,007	
Tabebuia impetiginosa 500 mg/kg	248,7 ± 8,9	7,9 ± 0,9	8,3 ± 0,2	9,8 ± 0,6	8,5 ± 1,0	0,001	

ex DC.) Standley, guayacán, mediante la medición de la disminución de edema en áreas en donde se inyecto λ-carragenina. El edema producido en este modelo, en una primera fase, está relacionado con la llegada de los polimorfonucleares, macrófagos y basófilos al sitio de la inflamación y la liberación de histamina y serotonina [18]. Mientras que en una segunda fase hay una relación establecida con la producción de prostaglandinas, sobrerregulación COX-2, y la producción de radicales libres (especies reactivas de oxígeno o nitrógeno) [19,20]; estos últimos componentes pueden prolongar el tiempo de inflamación hasta llegar a convertirla en crónica [21].

El estudio fitoquímico del extracto etanólico de *Tabebuia impetiginosa* (mart. ex. DC) Standley, guayacán. confirmó la presencia de metabolitos como compuestos fenólicos, saponinas esteroideas y flavonoides; estos resultados coinciden, en parte, con el estudio de Warashina *et al.* [13]. La mayoría de estos compuestos tienen actividad antiinflamatoria comprobada, por ejemplo, los flavonoides tienen la capacidad de inhibir las enzimas que ayudan a la síntesis de prostaglandinas y, con ello, reduciendo su nivel en el proceso inflamatorio [22]; por otro lado, las saponinas esteroideas, podrían estar ejerciendo acción antiinflamatoria mediante la inhibición de la ciclooxigenasa en leucocitos, y acción antioxidante por medio de la activación de la 5-lipoxigenasa [23].

Si bien se encontró evidencia que sugiere un posible efecto antiinflamatorio, mediante la medición de los diámetros de las extremidades, no se encontraron evidencias concluyentes como la de estudios previos. Por ejemplo, Lee *et al.* [24] determinaron que el extracto etanólico de corteza de *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb a dosis de 200 mg/kg inhibía entre un 30-50% la inflamación en comparación con el control negativo. De forma similar,

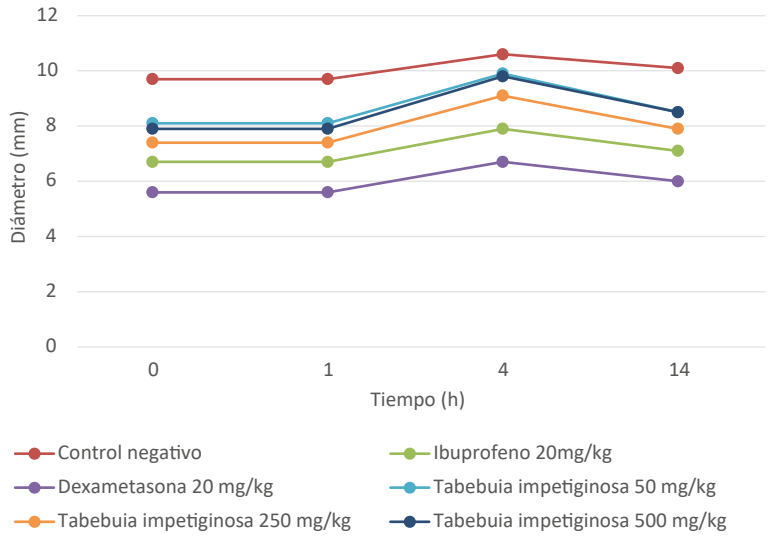

Gráfico 1. Efecto antiinflamatorio de extractos etanólicos de *Tabebuia impetiginosa* en comparación con controles positivos (ibuprofeno y dexametasona).

Gonçalves de Miranda *et al.* [25] encontraron que el extracto acuoso de corteza de *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb a 200 mg/kg puede disminuir el edema en 12,9% en comparación con controles negativos. En nuestro estudio no se logró determinar estos índices en forma confiable, pero los resultados más prometedores se encontraron en los animales a los que se administró el extracto etanólico a dosis de 250 mg/kg. A pesar de ello, ninguno de los grupos demostró tener un mejor desempeño que los controles positivos.

Este estudio presenta múltiples limitaciones, en primera instancia, por instancias administrativas no se pudo realizar una medición adecuada del volumen (edema) en los animales a los que se les inyecto la λ-carragenina al 0,1%; sin embargo, la medición de los diámetros podría brindar un indicio de un posible efecto antiinflamatorio [26]. A pesar de ello, consideramos que este reporte podría brindar datos preliminares que son de utilidad para futuros estudios; en vista de que la producción científica sobre esta especie vegetal aún es incipiente, se necesita incentivar que futuros estudios consideren a *Tabebuia impetiginosa* (Mart. Ex. DC) Standley, guayacán, como una opción de estudio para el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas en el campo de los antiinflamatorios.

Se concluye que el extracto etanólico de la corteza de *Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex DC.) Standley, guayacán, en dosis de 250 mg/kg puede tener efecto antiinflamatorio en un modelo murino de inflamación aguda con carragenina.

Referencias bibliográficas

1. Paguna P, Silvana J. "Uso de plantas medicinales en la labor de parto en la parroquia de Salasaca". 2018 [citado 2018 sep 19];Available from: http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/27693
2. Alamgir ANM. Therapeutic Use of Medicinal Plants and Their Extracts: Volume 1: Pharmacognosy [Internet]. Springer International Publishing; 2017 [citado 2018 sep 19]. Available from: //www.springer.com/la/book/9783319638614
3. Ghasemian M, Owlia S, Owlia MB. Review of Anti-Inflammatory Herbal Medicines. Advances in Pharmacological Sciences 2016;9130979.
4. Bagad AS, Joseph JA, Bhaskaran N, Agarwal A. Comparative Evaluation of Anti-Inflammatory Activity of Curcuminoids, Turmerones, and Aqueous Extract of Curcuma longa. Advances in Pharmacological Sciences 2013;2013:805756.
5. Verma PK, Bala M, Kumar N, Singh B. Therapeutic potential of natural products from terrestrial plants as TNF-α antagonist. Curr Top Med Chem 2012;12(13):1422–35.
6. Ribeiro VP, Arruda C, El-Salam MA, Bastos JK. Brazilian medicinal plants with corroborated anti-inflammatory activities: a review. Pharmaceutical Biology 2018;56(1):253–68.
7. Cao H, Yu R, Choi Y, Ma Z-Z, Zhang H, Xiang W, *et al*. Discovery of cyclooxygenase inhibitors from medicinal plants used to treat inflammation. Pharmacol Res 2010;61(6):519–24.
8. Gómez Castellanos JR, Prieto JM, Heinrich M. Red Lapacho (*Tabebuia impetiginosa*)--a global ethnopharmacological commodity? J Ethnopharmacol 2009;121(1):1–13.
9. Pires TCSP, Dias MI, Calhelha RC, Carvalho AM, Queiroz M-JRP, Barros L, *et al*. Bioactive Properties of *Tabebuia impetiginosa*-Based Phytopreparations and Phytoformulations: A Comparison between Extracts and Dietary Supplements. Molecules 2015;20(12):22863–71.
10. Lemos OA, Sanches JCM, Silva IEF, Silva MLA, Vinhólis AHC, Felix MAP, *et al*. Genotoxic effects of *Tabebuia impetiginosa* (Mart. Ex DC.) Standl. (Lamiales, Bignoniaceae) extract in Wistar rats. Genet Mol Biol 2012;35(2):498–502.
11. Moreira Vasconcelos C, Chaves Vasconcelos T, Fabiani Tenorio X, Evangelista Pires dos Santos R, Da Costa Maynart W, Gomes de Almeida T, *et al*. Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activity of extracts of *Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex DC.) Standl. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research 2014;6(7):2673–81.
12. Jiménez-González FJ, Veloza LA, Sepúlveda-Arias JC. Anti-infectious activity in plants of the genus Tabebuia. 1 2013;18(3):257–67.
13. Warashina T, Nagatani Y, Noro T. Constituents from the bark of *Tabebuia impetiginosa*. Chem Pharm Bull 2006;54(1):14–20.
14. Lock O. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. 2.ª ed. Lima: Fondo Editorial PUCP; 1994.
15. Arroyo J, Cisneros C. Modelos experimentales de investigación farmacológica. Facultad de Medicina Humana. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2012.
16. Winter CA, Risley EA, Nuss GW. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiiflammatory drugs. Proc Soc Exp Biol Med 1962;111:544–7.
17. The World Medical Association. WMA Statement on Animal Use in Biomedical Research. 2006;Available from: http://www.wma.net/es/30publications/10policies/a18/

18. Coura CO, Souza RB, Rodrigues JAG, Vanderlei E de SO, Araújo IWF de, Ribeiro NA, *et al*. Mechanisms Involved in the Anti-Inflammatory Action of a Polysulfated Fraction from Gracilaria cornea in Rats. PLOS ONE 2015;10(3):e0119319.

19. Posadas I, Bucci M, Roviezzo F, Rossi A, Parente L, Sautebin L, *et al*. Carrageenan-induced mouse paw oedema is biphasic, age-weight dependent and displays differential nitric oxide cyclooxygenase-2 expression. Br J Pharmacol 2004;142(2):331–8.

20. Moilanen LJ, Laavola M, Kukkonen M, Korhonen R, Leppänen T, Högestätt ED, *et a*l. TRPA1 Contributes to the Acute Inflammatory Response and Mediates Carrageenan-Induced Paw Edema in the Mouse. Scientific Reports 2012;2:380.

21. Toledo Yupanqui CL. Inflamación: Mediadores químicos. Revista de Actualización Clínica Investiga /;43:2266.

22. Kumar S, Pandey AK. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. ScientificWorldJournal 2013;2013:162750.

23. Wink M, Wink M. Modes of Action of Herbal Medicines and Plant Secondary Metabolites. Medicines 2015;2(3):251–86.

24. Lee MH, Choi HM, Hahm D-H, Her E, Yang H-I, Yoo MC, *et al*. Analgesic and anti-inflammatory effects in animal models of an ethanolic extract of Taheebo, the inner bark of *Tabebuia avellanedae*. Mol Med Rep 2012;6(4):791–6.

25. de Miranda FG, Vilar JC, Alves IA, Cavalcanti SC, Antoniolli AR. Antinociceptive and antiedematogenic properties and acute toxicity of *Tabebuia avellanedae* Lor. ex Griseb. inner bark aqueous extract. BMC Pharmacol 2001;1:6.

26. Posadas I, Bucci M, Roviezzo F, Rossi A, Parente L, Sautebin L, *et al*. Carrageenan-induced mouse paw oedema is biphasic, age-weight dependent and displays differential nitric oxide cyclooxygenase-2 expression. Br J Pharmacol 2004;142(2):331–8.