

Control de Calidad y Actividad Antiinflamatoria de las Drogas Vegetales *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze y *Bouchea fluminensis* (Vell.) Mold.*

Rosemeres HORWAT DELAPORTE¹, Gregorio MARTÍNEZ SÁNCHEZ²,
Armando CUÉLLAR CUÉLLAR² y João Carlos PALAZZO DE MELLO **³

¹ Universidade Paranaense, Praça Mascarenhas de Moraes, BR-87500-000, Umuarama, PR, Brasil

² Universidad de La Habana, San Lazaro y L., Ciudad Habana 4, P.C. 10400, La Habana, Cuba

³ Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790. BR-87020.900 Maringá. Pr. Brasil

RESUMEN. Las especies *Alternanthera brasiliana* y *Bouchea fluminensis* son dos plantas muy comunes en la parte sur de América del Sur y son ampliamente utilizadas por la población nativa en el tratamiento de diversas enfermedades. Hasta el momento no se ha realizado el control de calidad farmacognóstico de los extractos obtenidos de estas plantas. Por otra parte, a los extractos de *Bouchea fluminensis* no se les han realizado los ensayos para probar su potencial actividad antiinflamatoria. Por tanto, en este trabajo se realizó el control farmacognóstico a ambas especies, de acuerdo con los métodos indicados en las farmacopeas. Las plantas fueron recolectadas a mediados de cada estación del año. Además, se evaluó la actividad antiinflamatoria del extracto acuoso total de las hojas de *B. fluminensis* y de *A. brasiliana*. En vista de que *B. fluminensis* mostró una actividad farmacológica significativa sobre el edema inducido por carragenina en pata de rata, se realizó un ensayo biomonitorado partiendo de los extractos semi-purificados.

SUMMARY. "Quality Control and Antiinflammatory Activity of the Plant Drugs *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze and *Bouchea fluminensis* (Vell.) Mold." *Alternanthera brasiliana* and *Bouchea fluminensis* are medicinal plants which grow commonly in the southern part of South America and are widely used by native population to treat several diseases. The pharmacognostic quality control to the extracts obtained from these plants has not been yet performed. On the other hand, the extracts of *B. fluminensis* have not been previously tested for anti-inflammatory activity. Therefore, the aim of this study was to perform a pharmacognostic control to both plants according to the methods described in the pharmacopoeia. Leaves were collected about the middle of each season of the year. In addition, the anti-inflammatory activity of total aqueous extracts of *B. fluminensis* and *A. brasiliana* was evaluated. In view that *B. fluminensis* showed a significant pharmacological activity in carrageenan-induced rat paw edema, we performed a bio-monitored assay with semi-purified extracts of the plant.

INTRODUCCIÓN

Los estudios recientes con extractos vegetales han sido una práctica común en la búsqueda de nuevas opciones terapéuticas, tanto por parte del sector académico como del industrial. Por consiguiente, son necesarios estudios cada vez más detallados con cada especie vegetal para garantizar los tres aspectos básicos que deben cumplir los medicamentos: eficacia, seguridad y calidad. El mantenimiento de la calidad asegura

la eficacia del medicamento, estableciendo de esta forma la credibilidad necesaria para su uso.

Entre las diversas especies de uso popular se seleccionaron para estos estudios las plantas *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze (Amaranthaceae) y *Bouchea fluminensis* (Vell.) Mold., (Verbenaceae).

Los extractos acuosos de las hojas de *A. brasiliana*, conocida popularmente por penicilina y argentina, son empleados en la región sur de

PALABRAS CLAVE: Actividad Antiinflamatoria, *Alternanthera brasiliana*, Amaranthaceae, *Bouchea fluminensis*, Control de Calidad, Plantas Medicinales, Verbenaceae.

KEY WORDS: *Alternanthera brasiliana*, Amaranthaceae, Antiinflammatory Activity, *Bouchea fluminensis*, Quality Control, Medicinal Plants, Verbenaceae.

* El presente trabajo es parte de la tesis de doctorado de R.H.D.

** Autor a quien dirigir la correspondencia.

Brasil por sus propiedades analgésicas y antiinflamatorias. Recientemente fue reportado que un extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de penicilina presenta actividad analgésica, confirmándose, en parte, los usos populares de esta planta ¹. Por otra parte, Lagrota *et al.* ² observaron una inhibición significativa de la replicación del virus *Herpes simplex* tipo 1 por parte de los extractos acuoso y etanólico de las hojas de *A. brasiliensis*.

La especie vegetal *B. fluminensis* es una planta herbácea que se encuentra en Brasil y Bolivia ³ y las infusiones de las partes aéreas son usadas por la población nativa por sus propiedades estimulantes y reguladoras del sistema digestivo ⁴. Los estudios químicos describen el aislamiento de algunos iridoides tales como: lamide, durantósido II, duranterectósido C, lamidósido ⁵, boucheósido ⁶ y de una saponina (3-O-β-D-glucopiranosilsterol) ⁵. A pesar de las investigaciones realizadas hasta el momento, no se han reportado estudios farmacológicos con los extractos obtenidos de las hojas de esta planta ni con sus componentes fundamentales por separado.

En este trabajo se evaluaron estas dos especies vegetales desde el punto de vista del control de calidad farmacognóstico empleando técnicas descritas en las farmacopeas y se evaluó la actividad antiinflamatoria del extracto acuoso total de las hojas de *B. fluminensis* y de *A. brasiliensis*. Se realizó, además, un ensayo biomonitorizado a partir de extractos semi-purificados de *B. fluminensis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Droga vegetal

Las hojas de *Alternanthera brasiliensis* y *Bouchea fluminensis* se recolectaron en el Huerto de Plantas Medicinales de la Universidade Paranaense -UNIPAR- (23°45'32" S; 54°16'29" W) a mediados de las estaciones de primavera/98 (PRIM), verano/99 (VER), otoño/99 (OTO) e invierno/99 (INV). La especie vegetal *B. fluminensis* fue identificada por la Dr^a. Fátima Regina Salimena-Pires y un ejemplar de la misma se depositó en el herbario de la Universidad Federal de Juiz de Fora, con el número CESJ 30113. Por otro lado, la especie *A. brasiliensis* fue identificada por la Dr^a. Elsie Guimarães (Herbario del Jardín Botánico de Río de Janeiro, RB) y un ejemplar fue depositado en el herbario del Departamento de Biología de la Universidad Estatal de Maringá, con el número 4714 HUM.

Preparación de los extractos totales acuosos para el experimento A

Los extractos totales acuosos al 4,3% (p/V) fueron obtenidos de las hojas recolectadas en PRIM de *A. brasiliensis* y *B. fluminensis* por calentamiento a 70 °C durante 2 h y se filtraron rápidamente. A los sólidos residuales se les adicionaron 200 mL de agua destilada y se dejaron en proceso de maceración por más 12 h a temperatura ambiente. Los filtrados fueron concentrados obteniéndose 5,6 g y 7,5 g de residuo seco para *A. brasiliensis* y *B. fluminensis*, respectivamente. Estos extractos fueron utilizados en el estudio inicial de la actividad antiinflamatoria.

Extractos de polaridad creciente de B. fluminensis para el experimento B

A partir de 85 g de hojas secas y molidas (VER) de *B. fluminensis* se prepararon extractos con solventes de polaridad creciente tales como tolueno (3,2 g), dimetoxietanol (4,0 g) y etanol (9,8 g) empleando un aparato de Soxhlet. Con el residuo, luego del secado, se preparó un extracto por decocción con 350 mL de agua. Luego de la filtración se repitió el procedimiento con 250 mL de agua. Los extractos acuosos se reunieron y se concentraron en un rotoevaporador (Büchi 3000V) obteniéndose un residuo de 6,8 g.

Control de calidad

Se emplearon diversas metodologías para el control de calidad de ambas drogas vegetales. Las plantas se recolectaron en las diferentes estaciones del año y, en cada recolección se realizaron los siguientes estudios: 1) pérdida por secado a temperatura ambiente ⁷; 2) pérdida por secado a temperatura controlada (40 °C) en estufa de aire circulante; 3) pérdida por desecación ⁸; 4) determinación del contenido de cenizas totales; 5) determinación del contenido de sustancias extraíbles ⁹; 6) cuantificación de taninos totales ¹⁰; 7) cuantificación de flavonoides totales ⁹ y 8) análisis granulométrico ¹¹.

Animales

Se emplearon ratas Wistar hembras (150-200 g) de 8 semanas obtenidas del CENPALAB (Havana, Cuba). Los animales, en grupos de 5, se mantuvieron en cajas de propileno a 22 ± 2 °C con un ciclo luz/oscuridad de 12 h con libre acceso al agua y a la comida durante 7 días. Los animales se dejaron en ayunas durante 12 h antes del experimento.

Actividad antiinflamatoria

La carboximetilcelulosa sódica (CMC) se preparó al 0,25% en agua destilada. La indometacina se administró a una dosis de 10 mg/kg^{12,13} y todos los extractos se administraron por vía oral 30 min antes de la inyección de 0,1 mL de carragenina al 0,3% en la región plantar de la pata derecha trasera. En la pata contralateral se administró el mismo volumen de solución salina. El aumento de volumen de las extremidades posteriores fue medido durante las 5 h posteriores a la administración de la carragenina con un intervalo de medición de 1 h empleando un pletismómetro (Ugo Basile, Milán, Italia; Modelo 7150). Los cálculos se realizaron estableciendo las diferencias entre los volúmenes como porcentaje del volumen inicial. El resultado final se obtuvo substrayendo los valores controles (miembros a los que se les administró solución salina) de los valores prueba (miembros a los que se les inyectó carragenina). La dosis efectiva media (DE₅₀) se calculó interpolando en la curva logaritmo de la concentración vs. % de reducción del edema, el valor de dosis para el cual se produjo el 50% del efecto.

Experimento A

Se evaluó la actividad antiinflamatoria de los extractos acuosos de *A. brasiliensis* y *B. fluminensis* empleando el método del edema plantar inducido por carragenina descrito por Winter *et al.*¹⁴ y posteriormente modificado por Sugishita *et al.*¹⁵. Se utilizó la indometacina como control positivo. Los animales se dividieron en 8 grupos (n=5 en todos los casos) de la siguiente manera: 1) control negativo, administración de 1 mL/kg de CMC; 2) control positivo, indometacina; 3 y 4) 50 mg/kg del extracto de *A. brasiliensis* y de *B. fluminensis*; 5 y 6) 110 mg/kg del extracto de *A. brasiliensis* y de *B. fluminensis*; 7 y 8) 250 mg/kg del extracto de *A. brasiliensis* y de *B. fluminensis*.

Experimento B

En esta experiencia se utilizaron 14 grupos experimentales. Los grupos controles (negativo y positivo), así como el número de animales son iguales a los citados en el Experimento A. Se emplearon las dosis de 50, 110 y 250 mg/kg de los residuos de los extractos extraídos con tolueno, dimetoxietanol, etanol y agua.

Análisis estadístico

Para las diversas técnicas empleadas en el control de calidad se reporta el valor promedio,

desvío estándar y el coeficiente de variación. Para la verificación de la correlación entre las variables estudiadas se empleó la prueba de Tukey.

Para cada variable estudiada en la actividad antiinflamatoria se muestra el valor medio \pm desviación estándar. Las diferencias entre los grupos controles y tratados se determinaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) de clasificación simple seguido de la prueba de Duncan-Kramer de comparación múltiple de medias. Se consideraron las diferencias significativas para valores de $p < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la producción de un medicamento se hace necesario establecer una planificación adecuada con el objetivo de garantizar su seguridad, calidad y eficacia terapéutica. Los métodos de control de calidad empleados para tal fin pueden o no estar recogidos en las farmacopeas, y se prefiere que los análisis sean realizados con la materia prima tanto procesada como cultivada. Las pruebas realizadas pueden emplearse como parámetros a tener en cuenta en el control tanto de la materia prima como del proceso de producción de un agente fitoterapéutico.

Entre los métodos utilizados, la pérdida por secado muestra la cantidad de agua que pierde el vegetal en un determinado período de tiempo⁷. En este trabajo se realizó un estudio de secado a las drogas vegetales recolectadas en todas las estaciones del año de dos formas diferentes: secado a temperatura ambiente y secado en estufa de aire circulante con temperatura controlada. *A. brasiliensis* perdió una mayor cantidad de agua en OTO si se compara con el vegetal recolectado en las estaciones de INV, PRIM y VER (Tabla 1). Por otra parte, *B. fluminensis* perdió una mayor cantidad de agua en PRIM si se compara con el vegetal recolectado en INV, VER y OTO (Tabla 2). También se observó que las plantas recolectadas en INV se estabilizan más rápidamente que cuando se recolectan en PRIM, VER u OTO.

Otro de los métodos empleados fue la pérdida por desecación, el cual muestra el comportamiento de la planta en cuanto a su cantidad de agua y/o sustancias volátiles en las diferentes estaciones del año. Es importante tener en cuenta el período de almacenamiento, ya que la materia prima puede continuar perdiendo o absorbiendo agua del medio ambiente^{7,16}. *A. brasiliensis* mostró una mayor pérdida de agua y/o

	Primavera		Verano		Otoño		Invierno	
	$x \pm DE$	CV	$x \pm DE$	CV	$x \pm DE$	CV	$x \pm DE$	CV
PSTA	82,88 ± 0,27	0,33	82,85 ± 0,62	0,75	84,29 ± 0,40	0,48	84,69 ± 0,62	0,73
PSTC	83,74 ± 0,16	0,19	83,25 ± 0,32	0,38	86,11 ± 0,33	0,38	84,52 ± 0,44	0,52
PD	10,06 ± 0,52	5,21	8,21 ± 0,11	1,40	8,78 ± 0,07	0,80	9,40 ± 0,09	1,01
CT	14,50 ± 0,10	0,72	13,23 ± 0,47	3,56	14,49 ± 0,13	0,93	12,45 ± 0,10	0,83
SE	30,37 ± 0,07	0,23	30,22 ± 0,24	0,81	31,95 ± 1,47	4,61	31,05 ± 0,48	1,55
TT	0,87 ± 0,02	1,99	0,91 ± 0,015	1,68	1,06 ± 0,006	0,54	1,25 ± 0,006	0,46
FT	1,06 ± 0,04	3,94	1,12 ± 0,045	4,01	0,78 ± 0,01	1,28	1,20 ± 0,02	2,10

Tabla 1. Técnicas de control de calidad para la especie vegetal *Alternanthera brasiliana*.

$x \pm DE$ = promedio \pm desvío estándar; CV = coeficiente de variación; PSTA = pérdida por secado a temperatura ambiente; PSTC = pérdida por secado a temperatura controlada en estufa de aire circulante; PD = Pérdida por desecación; CT = Cenizas Totales; SE = determinación del contenido de sustancias extraíbles; TT = Taninos totales; FT = flavonoides totales.

sustancias volátiles cuando se recolectó en PRIM si se compara con las otras estaciones (Tabla 1) Sin embargo, la prueba de Tukey comprobó una diferencia significativa mayor entre las medias referentes a las recolecciones de VER y PRI.

B. fluminensis mostró una mayor pérdida en la recolección de INV seguida de la recolección de PRIM, OTO y VER (Tabla 2), habiendo sido, inclusive, comprobada por el análisis de la diferencia de las medias (Prueba de Tukey).

	Primavera		Verano		Otoño		Invierno	
	$x \pm DE$	CV	$x \pm DE$	CV	$x \pm DE$	CV	$x \pm DE$	CV
PSTA	78,47 ± 0,69	0,88	74,85 ± 0,90	1,21	73,39 ± 0,89	1,21	78,41 ± 0,28	0,36
PSTC	79,21 ± 0,16	0,21	76,09 ± 0,46	0,61	75,27 ± 1,00	1,32	78,41 ± 0,28	0,36
PD	9,85 ± 0,47	4,75	9,25 ± 0,04	0,45	9,27 ± 0,07	0,76	10,60 ± 0,05	0,52
CT	8,04 ± 0,07	0,83	8,28 ± 0,07	0,89	8,39 ± 0,01	0,12	8,50 ± 0,03	0,41
SE	40,65 ± 0,31	0,77	42,55 ± 0,94	2,20	41,10 ± 0,96	2,33	41,25 ± 0,92	2,23
TT	0,57 ± 0,01	2,66	0,79 ± 0,025	3,20	0,95 ± 0,01	1,05	0,63 ± 0,025	4,02
FT	0,90 ± 0,02	2,22	0,58 ± 0,015	2,62	0,70 ± 0,006	0,83	0,74 ± 0,006	0,78

Tabla 2. Técnicas de control de calidad para la especie vegetal *Bouchea fluminensis*.

$x \pm DE$ = promedio \pm desvío estándar; CV = coeficiente de variación; PSTA = pérdida por secado a temperatura ambiente; PSTC = pérdida por secado a temperatura controlada en estufa de aire circulante; PD = Pérdida por desecación; CT = Cenizas Totales; SE = determinación del contenido de sustancias extraíbles; TT = Taninos totales; FT = flavonoides totales.

El contenido de cenizas totales establece la cantidad de sustancia residual no volátil en el proceso de incineración. En las cenizas totales se incluyen tanto las denominadas cenizas fisiológicas como las no fisiológicas⁸. Los resultados obtenidos para *A. brasiliana* como para *B. fluminensis* pueden ser observadas para las estaciones INV, OTO, VER y PRIM en las Tablas 1 y 2. El contenido de cenizas encontrado para las plantas estudiadas es superior al valor medio

encontrado para otras drogas vegetales que se reportan en las farmacopeas¹⁷. Del modo en que se cultivaron estas plantas no hubo ninguna posibilidad de adulteración con materiales no fisiológicos, por lo que los altos valores encontrados para ambas especies son característicos de las mismas.

El contenido de sustancias extraíbles determina la cantidad de sustancias con posibilidad de ser extraídas por determinado solvente, en

este caso el agua. De esta forma se pueden realizar algunas comparaciones, como por ejemplo la cantidad de sustancias producidas por el vegetal en las diferentes estaciones del año. Estos resultados, sin embargo, no indican que en el residuo se encuentran los constituyentes activos, sino que establece algunas condiciones para el control de la materia prima durante todo el año^{18,19}. El contenido de sustancias extraíbles tanto para *A. brasiliiana* como para *B. fluminensis* no mostró diferencias estadísticas significativas en ninguna de las épocas del año, como se comprobó por la prueba de Tukey (Tablas 1 y 2). Se puede observar que tanto *A. brasiliiana* como *B. fluminensis* presentan grandes cantidades de sustancias extraíbles con el agua, lo que demuestra ambas poseen gran cantidad de sustancias polares.

La determinación del diámetro medio de las partículas es necesaria para la validación galénica de las drogas. Por tanto, el estudio granulométrico resulta muy importante, ya que el diámetro medio de las partículas (d_{50}) puede influir en los procesos de extracción de las sustancias activas^{11,20}. Con el empleo del gráfico de retención y paso de las partículas obtenido del tamizaje, se determinó un d_{50} de 0,36 para *A. brasiliiana* y de 0,47 para *B. fluminensis*.

Una de las características presentes en ambas especies objeto de estudio es la presencia de sustancias fenólicas, sin distinción entre flavonoides o taninos. De esta forma, la determinación del contenido total de estas sustancias puede constituir un criterio importante para establecer la época de recolección óptima del vegetal^{16,19}. Se observó una disminución significativa en el contenido de flavonoides de *A. brasiliiana* entre la recolección de INV y de OTO, mientras que la mayor diferencia en *B. fluminensis* ocurrió entre la recolección de PRIM y la de VER (Tablas 1 y 2). Las diferencias observadas están relacionadas directamente con el metabolismo del vegetal en cada una de las estaciones del año. Estos resultados, por sí solos, justifican el uso de los métodos abordados anteriormente para garantizar la calidad de la materia prima vegetal. De esta forma es posible establecer parámetros para la producción de un producto fitoterapéutico.

Una de las formas actuales para comprobar los usos populares de una especie vegetal es la realización de ensayos biológicos que ofrezcan confiabilidad científica²¹. En este trabajo se evaluó la actividad antiinflamatoria de diferentes extractos de las dos drogas vegetales estudiadas.

Siguiendo la metodología especificada, se inyectó en la región plantar de la extremidad posterior derecha de la rata 0,1 mL de carragenina (agente pro-inflamatorio), obteniéndose un volumen de $1,20 \pm 0,02$ mL ($n=40$). En el grupo control se observó un aumento progresivo del edema inducido por carragenina y se obtuvo el valor máximo a las 4 horas luego de la administración. En este tiempo el volumen de edema fue mayor en un 40% con respecto al control (solución salina).

Los resultados demostraron que a las diferentes dosis ensayadas el extracto acuoso total de *B. fluminensis* mostró un efecto antiinflamatorio de mayor intensidad, en comparación con el extracto acuoso de *A. brasiliiana*.

La dosis de 250 mg/kg del extracto total acuoso de *A. brasiliiana* en el intervalo de tiempo de 3 a 5 h redujo de forma significativa el edema plantar en un 42-43% ($p<0,05$), con respecto a los animales controles (tratados con CMC) como se observa en la Fig. 1.

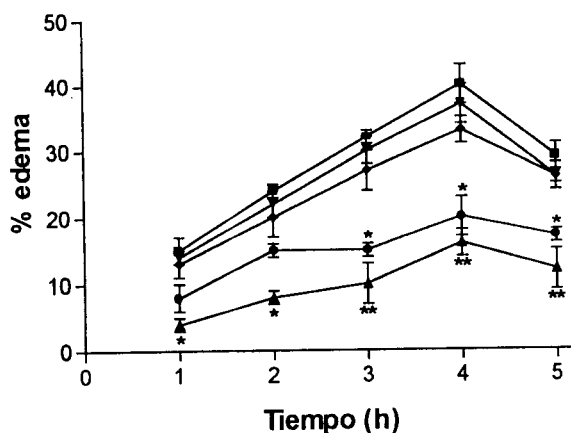


Figura 1. Efecto del extracto acuoso total de *A. brasiliiana* sobre el edema plantar inducido por carragenina. CMC (control) (■); indometacina 10 mg/kg (▲); extracto 50 mg/kg (▼); 110 mg/kg (◆); 250 mg/kg (●). Los extractos se administraron por vía oral, 30 min antes de inyectar 0,1 mL (0,3%) de carragenina. Diferencias significativas (* $p<0,05$ y ** $p<0,01$) con respecto al grupo control.

No se observaron efectos significativos sobre el edema inducido por carragenina a las dosis de 50 y 110 mg/kg del extracto acuoso total de *B. fluminensis*. Sin embargo, la dosis de 250 mg/kg del extracto acuoso redujo el edema plantar en un 51-59% en el intervalo de 1 a 5 horas luego de la administración de carragenina, en comparación con las ratas tratadas con CMC (Fig. 2).

El análisis estadístico demostró que los ex-

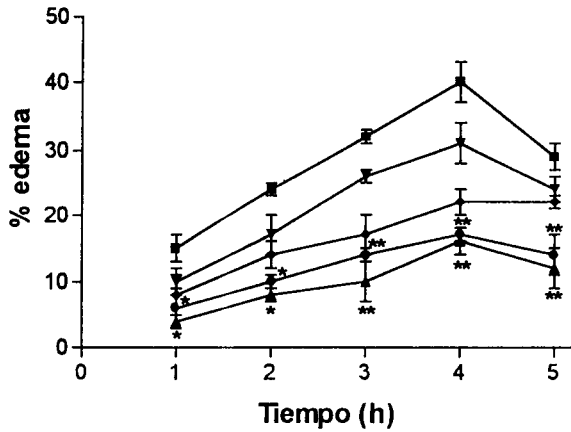


Figura 2. Efecto del extracto acuoso total de *B. fluminensis* sobre el edema plantar inducido por carragenina. CMC (control) (■); indometacina 10 mg/kg (▲); extracto 50 mg/kg (▼); 110 mg/kg (◆); 250 mg/kg (●). Los extractos se administraron por vía oral, 30 min antes de inyectar 0,1 mL (0,3%) de carragenina. Diferencias significativas (* $p < 0,05$ y ** $p < 0,01$) con respecto al grupo control.

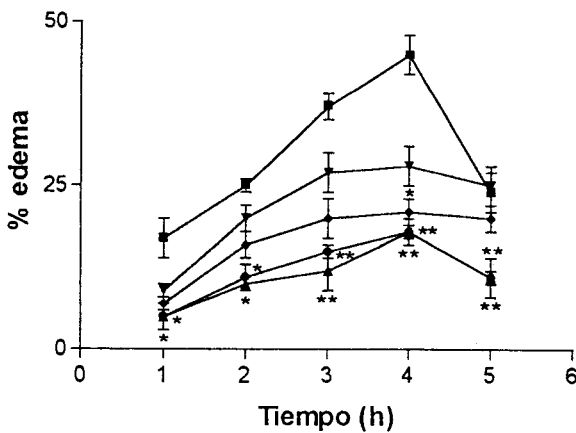


Figura 3. Efecto acuoso del extracto acuoso de *B. fluminensis* sobre el edema plantar inducido por carragenina. CMC (control) (■); indometacina 10 mg/kg (▲); extracto 50 mg/kg (▼); 110 mg/kg (◆); 250 mg/kg (●). Los extractos se administraron por vía oral, 30 min antes de inyectar 0,1 mL (0,3%) de carragenina. Diferencias significativas (* $p < 0,05$ y ** $p < 0,01$) con respecto al grupo control.

tractos acuosos totales de *A. brasiliensis* y de *B. fluminensis*, a la dosis de 250 mg/kg, presentan actividad antiinflamatoria. El extracto de *B. fluminensis* mostró un efecto comparable con el de la indometacina a una dosis de 10 mg/kg por vía oral, mientras que el extracto de *A. brasiliensis* tuvo un efecto de menor intensidad.

Se prosiguió el estudio con extractos diferenciados y de polaridad creciente obtenidos de las

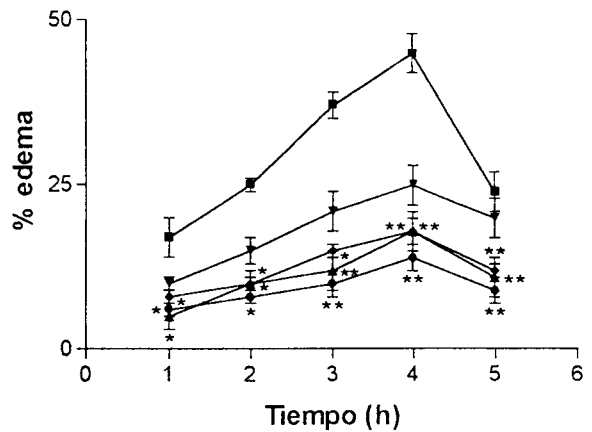


Figura 4. Efecto del extracto etanólico to de *B. fluminensis* sobre el edema plantar inducido por carragenina. CMC (control) (■); indometacina 10 mg/kg (▲); extracto 50 mg/kg (▼); 110 mg/kg (◆); 250 mg/kg (●). Los extractos se administraron por vía oral, 30 min antes de inyectar 0,1 mL (0,3%) de carragenina. Diferencias significativas (* $p < 0,05$ y ** $p < 0,01$) con respecto al grupo control.

hojas de *B. fluminensis* con el objetivo de tratar de determinar el agente responsable de la actividad antiinflamatoria.

El volumen de la extremidad posterior derecha a la cual se le inyectó 0,1 mL de carragenina fue de $1,22 \pm 0,03$ mL ($n=70$). En el grupo control se observó un aumento progresivo del edema inducido por carragenina hasta alcanzarse un valor máximo a las 4 horas. A este tiempo el volumen de la extremidad control fue $45 \pm 3\%$ mayor en comparación con la extremidad a la que se le administró solución salina.

La administración por vía oral del residuo obtenido de la extracción con tolueno no ejerció ningún efecto sobre el edema plantar inducido por carragenina en la rata. Un resultado similar se obtuvo con el residuo de la extracción con dimetoxietanol.

La dosis de 250 mg/kg del extracto acuoso de las hojas de *B. fluminensis* redujo significativamente el edema plantar inducido por carragenina en la rata, sin embargo las dosis de 50 y 110 mg/kg no ejercieron efectos significativos (Fig. 3).

Por otro lado, el residuo del extracto etanólico de las hojas de *B. fluminensis* a las dosis de 110 y 250 mg/kg mostró una actividad antiinflamatoria significativa ($p < 0,05$) (Fig. 4).

La dosis mayor de los residuos obtenidos de las extracciones con tolueno y dimetoxietanol (250 mg/kg) no logró ni siquiera reducir en un 50% el edema plantar inducido por carragenina.

Extracto	% de reducción del edema a las 4 horas			DE ₅₀ (mg/kg)
	50 mg/kg	110 mg/kg	250 mg/kg	
Acuoso	38 ± 3	54 ± 4	60 ± 5	116 ± 9
Etanólico	46 ± 5	60 ± 5	69 ± 5	60 ± 12
Dimetoxietanol	22 ± 3	34 ± 3	46 ± 4	*
Tolueno	33 ± 3	39 ± 4	46 ± 4	*

Tabla 3. Porcentaje de reducción del edema y dosis efectivas medias (DE₅₀) para los diferentes extractos.

* dosis mayor que las ensayadas.

La dosis efectiva media del residuo del extracto etanólico es casi la mitad de la del residuo del extracto acuoso (Tabla 3).

El residuo del extracto acuoso a la dosis de 250 mg/kg tiene una actividad antiinflamatoria significativa (Fig. 3), mientras que el residuo del extracto etanólico (Fig. 4) muestra una respuesta superior. Los residuos de los extractos de menor polaridad mostraron pocos efectos antiinflamatorios.

Las dosis efectivas medias (DE₅₀) calculadas a las 4 horas (tiempo al cual se obtuvo la respuesta inflamatoria máxima para el grupo control), demuestran que la conclusión anterior es correcta, ya que la dosis del extracto alcohólico es casi la mitad de la dosis efectiva media encontrada para el extracto acuoso. Esto demues-

tra que el extracto alcohólico posee una mayor cantidad de sustancias responsables del efecto observado.

En los extractos menos polares, la mayor dosis ensayada no logra reducir en un 50% el edema. Probablemente resultaría necesario ensayar dosis mayores para obtener mejores respuestas (Tabla 3).

La dosis de 250 mg/kg referida al extracto etanólico fue la que mostró un efecto antiinflamatorio significativo ($p < 0,05$), en comparación con la dosis de 10 mg/kg de indometacina. El extracto etanólico de *B. fluminensis* continúa siendo objeto de estudio con el objetivo de determinar su composición química y evaluar sus propiedades antiinflamatorias.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Souza, I.M., T.T. Melo, E.M. Franzotti, A.R. Antonioli, C.C. Morato & R.H.V., Mourão (1998) In: *Anais da XIII Reunião Anual da Fed. Soc. de Biol. Exper. (FESBE)*, pág. 103
- Lagrotta, M.H.C., M.D. Wigg, M.M.F.S. Miranda, M.G.M. Santos, & S.S. Costa (1995) *Biomed. Lett.* **51**: 127-35
- Troncoso, N.S. (1974) *Darwiniana* **18**: 348-50
- Pio Corrêa, M. (1984) *Dicionário de plantas úteis do Brasil*. v. 3: pág. 395
- Schuquel, I.T.A. (1996) "*Estudo químico e avaliação de atividade antibacteriana da espécie vegetal Bouchea fluminensis* (Vell.) Mold. (VERBENACEAE)", dissertação de mestrado. Curso de Pós-Graduação em Química Aplicada da Universidade Estadual de Maringá, 77 págs.
- Schuquel, I.T.A., A. Malheiros, M.H. Sarragiotto & G.J. Vidotti (1998) *Phytochemistry* **49**: 2409-11
- Mello, J.C.P. de (1989) "*Desenvolvimento galênico de macerados de Baccharis trimera* (Less.) D.C. - *Compositae*-(*carqueja*)", Dissertação de mestrado. Curso de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 136 págs.
- Farmacopéia Brasileira* (1996) 4ª Ed., Atheneu, São Paulo
- Deutsches Arzneibuch (1994) 10a Ed., Stuttgart. Wissenschaftliche
- Glasl, H. (1983) *Dtsch. Apoth. Ztg.* **123**: 1979-87
- Voigt, R. (1993) *Pharmazeutische Technologie*. 7ª Ed., Berlin: Ullstein Mosloy, págs. 65-8
- Da Silva J.A., A.B. Oliveira & A.J. Lapa (1994) *J. Pharm. Pharmacol.* **46**: 118-22
- Nargund, L.V., G.R. Reddy & V. Hariprasad (1994) *J. Pharm. Sci.* **83**: 246-75
- Winter, C.A., E.A. Risley & V.G. Nuss (1962) *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **111**: 544-7
- Sugishita, E., S. Amagaya & Y. Ogihara (1981) *J. Pharmaco-Biodyn.* **4**: 565-75

16. Senna, E.M.T.L. (1993) "*Desenvolvimento de extratos secos nebulizados de Achrocline satuireioides (LAM.) DC. Compositae (Marcela)*". Dissertação de mestrado. Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFRGS, 140 págs.
17. *Farmacopéia Brasileira* (1977) 3ª Ed., Atheneu, São Paulo
18. Zhi-Cen, L. (1980) *General Control Methods for Vegetable Drugs*. Geneve: WHO, págs. 31-3
19. Peres, P.G.P., M.A. Rebecca, E.A. Audi, C.A. Bersani-Amado, T.U. Nakamura, C.V. Nakamura, & J.C.P. de Mello (1998) *Rev. Bras. Farm.* **79**: 20-22
20. Mello, J.C.P. & P.R. Petrovick (2000) *Acta Farm. Bonaerense* **19**: 211-5
21. Audi, E.A., D.P. Toledo, P.G. Peres, E. Kimura, W.K.V. Pereira, J.C.P. de Mello, C. Nakamura, W. Alves-do-Prado, R.K.N. Cuman, C.A. Bersani-Amado (1999) *Phytother. Res.* **13**: 264-6