Acta Farm. Bonaerense **23** (4): 492-7 (2004)
Recibido el 7 de junio de 2004
Aceptado el 14 de agosto de 2004

Efecto antiinflamatorio del Extracto Acuoso Liofilizado de *Ocimum tenuiflorum* L. en ratas

Pedro Barzaga FERNÁNDEZ [1]*, Yanier Núñez FIGUEREDO [1], Carmen Carrillo DOMÍNGUEZ [1]; Ismael Chávez HERNÁNDEZ [2]; María Lidia González SANABRIA [2]; Rafael GONZÁLEZ [1] & Mayelín ECHEVARRÍA [1]

[1] *Departamento de Control Biológico. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos. Calle 17 No. 6208 e/ 62 y 64. Playa. Ciudad de La Habana, Cuba.*
[2] *Departamento de Productos Naturales. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos. Ave. 26 # 1605 e/ Boyeros y Puentes Grandes. CP. 10600. Ciudad de La Habana, Cuba.*

RESUMEN. Se estudió la actividad antiinflamatoria del extracto acuoso liofilizado de *Ocimum tenuiflorum* L. producido por el CIDEM en animales de experimentación. En ratas se evaluó el efecto de las dosis 250, 500 y 1000 mg/kg sobre la inflamación aguda provocada por carragenina, dextrán, histamina y serotonina; así como de 50, 150 y 450 mg/kg en el modelo de granuloma inducido por pellets de algodón. El extracto acuoso liofilizado mostró efecto inhibitorio sobre los edemas, excepto sobre el inducido por la serotonina. Las dosis de 150 y 450 mg/kg disminuyeron significativamente el peso del granuloma con ausencia de efectos sobre el timo y las glándulas suprarrenales. Estos resultados muestran que el extracto posee propiedades anti-inflamatorias interesantes para futuros estudios.

SUMMARY. "Anti-inflammatory Effect of Lyophilized Aqueous Extract of *Ocinum tenuiflorum* on Rats". The anti-inflammatory activity of the lyophilized aqueous extract from *Ocimum tenuiflorum* L. produced by CIDEM was studied in experimental animals. The effect of 250, 500 and 1000 mg/kg was assesed in acute inflammation induced by carragenin, dextran, histamine and serotonine; as well as the effect of 50, 150 and 450 mg/kg in the granulome induced by cotton pellets. The lyophilized aqueous extract inhibited the increase of paw edema induced by carrageniin, dextran or histamine but it didn't over serotonine induced edema. The extract's doses 150 and 450 mg/kg diminished granulome's weight without affecting tymus's and adrenal's weight. Present results make the aqueous lyophilized extract from *Ocimum tenuiflorum* L. worthy of further investigations.

INTRODUCCIÓN

El estudio de nuevos fármacos o principios activos con propiedades terapéuticas obtenidos a partir de fuentes naturales ha cobrado gran importancia en los últimos años. Incluso en países donde la biotecnología y la industria químico-farmacéutica han alcanzado un alto desarrollo, se destina gran cantidad de recursos a la investigación de las bondades que nos ofrece la naturaleza con fines médico-terapéuticos.

Ocimum tenuiflorum L., conocida como albahaca morada, es utilizada por la población cubana en forma de decocción para aliviar los dolores de cabeza [1]. Entre otras, se le atribuyen propiedades como hipoglicemiante [2-4], hipotensora, anticonvulsivante, antiespasmódico, inmunoestimulante, inhibidor de prostaglandinas y antiinflamatoria [5].

Gran variedad de compuestos biológicamente activos han sido aislados de sus hojas, entre los que se incluyen el ácido ursólico, la apigenina y la luteolina [6]. El ácido ursólico es un potente agente antiinflamatorio [7], que posee actividad antimicrobiana [8] además de que ha sido utilizado en cosméticos con el objetivo de estimular el crecimiento del cabello así como evitar la irritación del cuero cabelludo [9-10].

Teniendo en cuenta la composición fitoquímica de esta planta, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar las propiedades antiinflamatorias en modelos farmacológicos preclínicos de un extracto acuoso liofilizado de *Ocimum tenui-*

PALABRAS CLAVE: Actividad antiinflamatoria, Albahaca morada, Extracto acuoso liofilizado, Lamiaceae, *Ocimum tenuiflorum* L.
KEY WORDS: Anti-inflammatory activity, Lyophilized aqueous extract, Lamiaceae, *Ocimum tenuiflorum* L.

* Autor a quien debe ser enviada la correspondencia. *E-mail:* cinfa@infomed.sld.cu, cidem@infomed.sld.cu.

ISSN 0326-2383

florum L. producido en el Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos de Cuba (CIDEM).

MATERIALES Y MÉTODOS

Sustancia de ensayo

Extracto acuoso liofilizado de *Ocimum tenuiflorum* L. obtenido a partir de la suspensión acuosa del follaje de la planta. El material vegetal fue colectado en la Estación Experimental de Plantas Medicinales "Juan Tomás Roig" del CIDEM en primavera, con Nº de herbario 0019, lote 16-17 y secado a 40 °C en estufa de recirculación de aire. La suspensión acuosa fue preparada reflujando 100 g de material vegetal con 1 L de agua destilada durante 15 min y preservando con metilparabeno al 0,2% y propilparabeno al 0,02%. El perfil cromatográfico de la suspensión fue caracterizado por cromatografía de capa delgada. Posteriormente la suspensión acuosa fue sometida a un proceso de liofilización empleando para ello una liofilizadora Edward.

Reactivos químicos

Fosfato ácido de histamina, pentobarbital sódico, sulfato de serotonina (BDH), dextrán 40, carragenina (Sigma), difenhidramina, ciproheptadina, indometacina, penicilina procaínica, prednisolona (Medsol).

Animales

Ratas Wistar hembras procedentes de la colonia del Departamento Control Biológico del CIDEM, con una masa corporal comprendida entre 150 y 200 g. Fueron alojadas en sala con condiciones de: temperatura controlada de 22 ± 2 °C, cama con viruta con cambio cada 48 h y un ciclo de luz-oscuridad de 12/12 h. El pienso peletizado CMO 1000, dieta proveniente del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB), y el agua fueron administrados a libre demanda. Todos los procedimientos fueron ejecutados de acuerdo a las normas éticas dictadas por la Unión Europea para la experimentación animal.

Inflamación aguda inducida por diferentes agentes flogísticos

Los animales fueron tratados oralmente con una dosis única de acuerdo al grupo a que pertenecían. Las dosis del liofilizado de *O. tenuiflorum* L. empleadas fueron 250, 500 y 1000 mg/kg; como drogas de referencia se emplearon indometacina 10 mg/kg, difenhidramina 60 mg/kg y ciproheptadina 5 mg/kg mientras que los animales pertenecientes a los grupos control recibieron agua destilada. Una hora después el edema fue inducido en la pata derecha trasera del tren posterior por inyección de un volumen de 0,1 mL de soluciones de los diferentes agentes flogísticos: carragenina 1%, dextrán 1%, histamina 1% y serotonina 0,01% en solución salina [11-12]. La pata contralateral recibió igual volumen de salina. Los volúmenes de ambas patas fueron medidos con ayuda de un pletismómetro (UGO Basile) 4 h después de inducido el edema por carragenina y a la hora en el resto de los edemas. El volumen del edema se determinó a partir de la diferencia entre los volúmenes de la pata derecha y la izquierda. La actividad antiinflamatoria se expresó a través del porciento de inhibición del edema con respecto al grupo control.

Inflamación subcrónica

Discos de algodón de 50 mg de peso fueron implantados en número de cuatro bajo la región escapular de cada animal. Los animales distribuidos en cinco grupos de tratamiento recibieron durante siete días consecutivos agua, *O. tenuiflorum* L. en dosis de 50, 150 y 450 mg/kg y prednisolona 3 mg/kg. 24 h luego de la última administración se sacrificaron todas las ratas y se extrajeron los granulomas, el timo y las glándulas suprarrenales de cada animal para la determinación de sus pesos [13].

Procesamiento estadístico

Se calculó la media ± desviación estándar de los parámetros analizados en cada ensayo para cada grupo. Los datos se procesaron mediante un análisis de varianza de una vía (ANOVA) y posteriormente se realizó un test de Duncan considerándose significativas diferencias de al menos $p<0,05$ [14].

RESULTADOS

Inflamación aguda inducida por carragenina

El edema inducido por inyección subplantar de 0,1 mL de carragenina 1% mostró una disminución dosis-dependiente por el tratamiento con las diferentes dosis del extracto acuoso liofilizado de *O. tenuiflorum* L. (Fig. 1). A la dosis de 500 mg/kg ya se observaba una disminución del 25,00 ± 2,80 % de la inflamación y a la dosis de 1000 mg/kg el edema disminuyó en un 38,68 ± 2,91%, lo que indica la presencia de componentes en el extracto con actividad antiinflamatoria. La indometacina disminuyó la inflamación en 59,56 ± 13,85%, mientras que el extracto a la dosis de 250 mg/kg en un 7,00 ± 0,47%, presen-

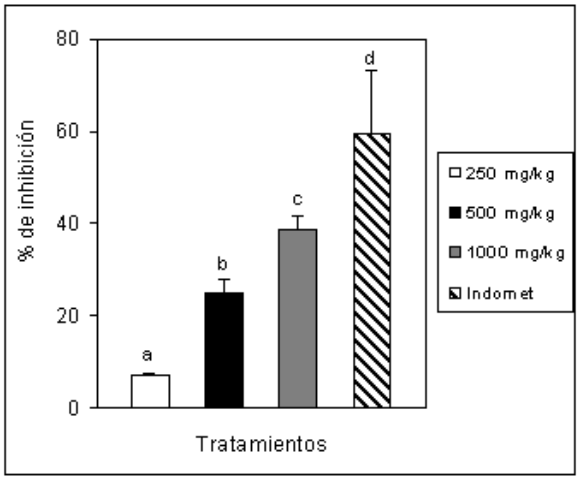

Figura 1. Efecto de diferentes dosis de extracto acuoso liofilizado de *Ocimum tenuiflorum* L. e indometacina sobre el edema subplantar inducido por carragenina 1%. Las barras representan la media ± desviación estándar (n =10). Grupos con al menos una letra en común no son significativamente diferentes. (p<0,05, test de Duncan).

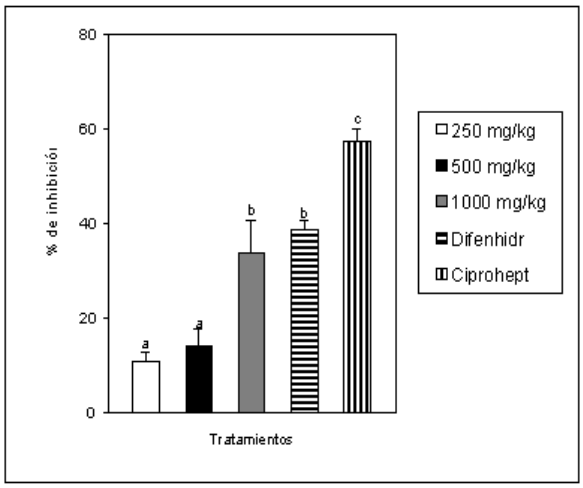

Figura 2. Efecto de diferentes dosis de extracto acuoso liofilizado de *Ocimum tenuiflorum* L., difenhidramina y ciproheptadina sobre el edema subplantar inducido por dextrán 1%. Las barras representan la media ± desviación estándar (n=10). Grupos con al menos una letra en común no son significativamente diferentes. (p<0,05, test de Duncan).

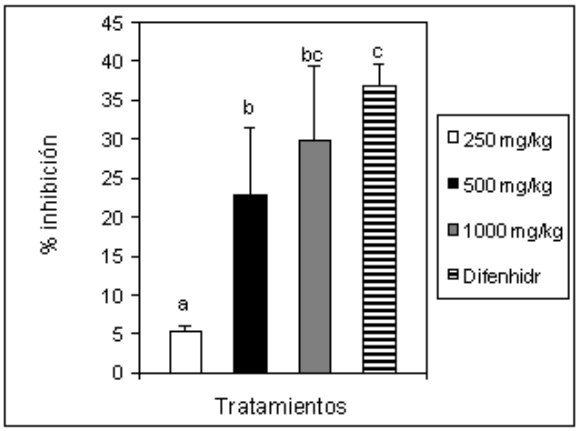

Figura 3. Efecto de diferentes dosis de extracto acuoso liofilizado de *Ocimum tenuiflorum* L. y difenhidramina sobre el edema subplantar provocado por histamina 1%. Las barras representan la media ± desviación estándar (n=10). Grupos con al menos una letra en común no son significativamente diferentes. (p<0,05, test de Duncan).

tándose diferencias significativas para p<0,05 entre todos los grupos de tratamiento.

Inflamación aguda inducida por dextrán 1%

El extracto acuoso liofilizado de *O. tenuiflorum* L. provocó una disminución del edema inducido por dextrán 1% en la pata de la rata (Fig. 2). Las dosis de 250 y 500 mg/kg de albahaca morada no presentan diferencias significativas entre sí, con porcientos de inhibición de la inflamación de 10,81 ± 1,88 y 14,19 ± 3,46% respectivamente, el extracto acuoso liofilizado de *O. tenuiflorum* L. a la dosis de 1000 mg/kg (33,78 ± 6,89 %) presentó diferencias significativas para p<0,001 con respecto a las otras dosis del extracto, pero fue estadísticamente similar a difenhidramina 60 mg/kg (38,51 ± 2,11%). La ciproheptadina disminuyó el edema en un 57,43 ± 2,73 %.

Inflamación aguda inducida por histamina 1%

La administración subplantar de 0,1 ml de histamina 1% en la pata de la rata es capaz de provocar inflamación en la misma. A medida que aumentamos la dosis del extracto acuoso liofilizado de *O. tenuiflorum* L. el edema en la pata inflamada se presenta con menor intensidad (Fig. 3), las dosis de 500 y 1000 mg/kg de albahaca morada no presentaron diferencias significativas entre sí (22,81 ± 8,71 y 29,82 ± 9,70% respectivamente), las dosis de 1000 mg/kg de *O. tenuiflorum* L. y difenhidramina 60 mg/kg disminuyeron la inflamación de manera similar, esta última inhibió el edema en un 36,84 ± 2,83%.

Inflamación aguda inducida por serotonina 0,01%

Los porcentajes de inhibición del edema inducido por la inyección subplantar de 0,1 mL de serotonina 0,01 % en los animales tratados con las diferentes dosis del extracto acuoso liofilizado de *O. tenuiflorum* L. no presentaron diferencias significativas entre sí, obteniéndose valores de % de inhibición del edema de 6,71 ± 1,01, 11,21 ± 3,48 y 15,44 ± 7,23 % para las dosis de 250, 500 y 1000 mg/kg, respectivamente (Fig. 4).

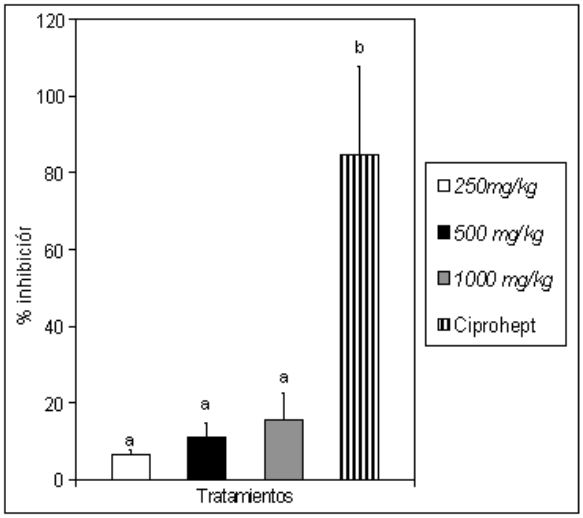

Figura 4. Efecto de diferentes dosis de extracto acuoso liofilizado de *Ocimum tenuiflorum* L. y ciproheptadina sobre el edema subplantar provocado por serotonina 0.01%. Las barras representan la media ± desviación estándar (n=10). Grupos con al menos una letra en común no son significativamente diferentes. (p<0,05, test de Duncan).

El grupo tratado con ciproheptadina 5 mg/kg experimentó un % de inhibición de la inflamación de 84,56 ± 23,06 %, siendo éste diferente significativamente para p<0,001 con respecto al resto de los grupos de tratamiento.

Inflamación subcrónica

La administración diaria de *O. tenuiflorum* L. a las dosis de 150 y 450 mg/kg inhibió significativamente la formación de tejido granulomatoso de forma comparable con la obtenida para la prednisolona (Fig. 5). *O. tenuiflorum* L. fue capaz de inhibir la formación de tejido granulomatoso sin afectar el peso del timo (Fig. 6). Tampoco se observaron diferencias significativas en cuanto al peso de las glándulas suprarrenales en ninguno de los tratamientos empleados (resultados no mostrados).

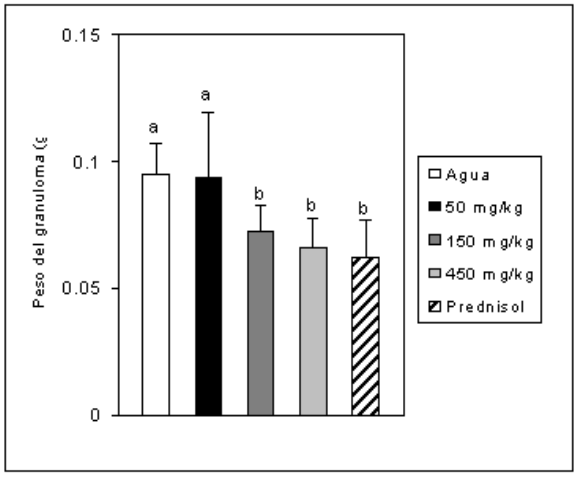

Figura 5. Efecto de diferentes dosis de extracto acuoso liofilizado de *Ocimum tenuiflorum* L. y prednisolona sobre el peso del granuloma. Las barras representan la media ± desviación estándar (n=10). Grupos con al menos una letra en común no son significativamente diferentes. (p<0,05, test de Duncan).

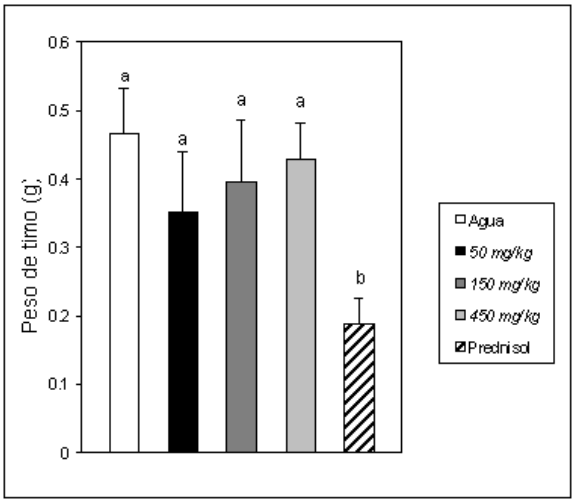

Figura 6. Efecto de diferentes dosis de extracto acuoso liofilizado de *Ocimum tenuiflorum* L. y prednisolona sobre el peso del timo. Las barras representan la media ± desviación estándar (n=10). Grupos con al menos una letra en común no son significativamente diferentes. (p<0,05, test de Duncan).

DISCUSIÓN

Existen diferentes sustancias utilizadas en la inducción del edema de la pata de la rata [11-12]. En el edema por dextrán la reacción inflamatoria está condicionada por liberación de histamina y serotonina [15], por degranulación de los mastocitos, en tanto que en el edema por carragenina se encuentran involucrados estos autacoides en la primera fase de la inflamación y en una segunda fase posterior no menos importante están presentes las prostaglandinas [16]; de ahí que los compuestos inhibidores de la síntesis de prostaglandinas resultan eficaces en la inhibición de dicho edema [17]. A partir de los porcentajes de inhibición del edema obtenido con la carragenina podríamos sugerir que el extracto de *O. tenuiflorum* L. inhibe la liberación o acción de las prostaglandinas, resultando ser menos efectivo que la indometacina. Esta actividad podría estar relacionada con la presencia en este extracto de ácido ursólico, compuesto antiinflamatorio del que se conoce que no sólo inhibe la elastasa en leucocitos humanos [18], sino además las actividades de la 5-lipoxigenasa y de la ci-cloxigenasa [19].

Se ha reportado que la administración de extractos de *Ocimum tenuiflorum* L. reducen el estrés, modulan funciones inmunológicas y retardan el desarrollo de úlceras inducidas por histamina en animales de experimentación [20]. En el presente estudio el extracto acuoso liofilizado de *O. tenuiflorum* L. se comportó como inhibidor de los diferentes edemas inducidos; sin embargo en las inflamaciones condicionadas por la presencia de histamina se observó mejor efecto con respecto al control positivo empleado, no presentándose diferencias significativas entre el extracto acuoso liofilizado de *O. tenuiflorum* L. a la dosis de 1000 mg/kg y la difenhidramina a 60 mg/kg. Estos resultados nos conducen a pensar que pudiera existir una mayor capacidad por parte del extracto acuoso liofilizado de *O. tenuiflorum* L. para antagonizar los efectos de la histamina, no ocurriendo lo mismo con el edema inducido por serotonina donde el mayor porcentaje de inhibición por parte de *O. tenuiflorum* L. fue sólo de 15,44 ± 7,23. La capacidad de inhibir el edema inducido por histamina podría estar justificado por la presencia de ácido ursólico en nuestro extracto, pues se conoce que éste es un compuesto muy activo en la inhibición de la degranulación de mastocitos y liberación de histamina en presencia de alergenos [21].

La implantación subcutánea de pellets de algodón en ratas da lugar a la formación de un granuloma que consiste en una cápsula fibrosa vascularizada que contiene fibroblastos e infiltrado de células mononucleares. En la respuesta inflamatoria crónica que se origina en este proceso están involucrados de manera significativa los productos de la lipooxigenasa, por lo que los antiinflamatorios no esteroidales presentan baja eficacia para revertir o impedir el daño provocado [22]; por todo esto podríamos pensar también que el extracto acuoso de *O. tenuiflorum* L. posee efecto inhibitorio sobre el metabolismo del ácido araquidónico por acción sobre la lipooxigenasa o antagoniza los receptores de los mediadores inflamatorios producidos en dicho proceso. La presencia de ácido ursólico podría justificar esta respuesta, pues como ya se mencionó demostró ser un inhibidor de la actividad de la 5-lipoxigenasa de macrófagos, plaquetas y células leucémicas HL60 [19]. La no afectación del peso de las glándulas suprarrenales hallada en el presente estudio corrobora lo encontrado por Bhargava & Singh [20], quienes luego de la administración de un extracto de *Ocimum tenuiflorum* L. no hallaron afectaciones sobre el peso de este órgano.

Futuros trabajos que permitan esclarecer aún más los mecanismos por los cuales ejerce propiedades antiinflamatorias el extracto acuoso liofilizado producido por el CIDEM son necesarios, además de determinar la influencia de el (los) componente(s) activo(s) en esta actividad, mediante procedimientos de aislamiento de dicho(s) compuesto(s) a partir del extracto.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos nos permiten arribar a las siguientes conclusiones en relación al extracto acuoso liofilizado de *Ocimum tenuiflorum* L.:

1. A las dosis ensayadas disminuyó significativamente los edemas inducidos por carragenina, dextrán e histamina, indicando así la posible presencia en el mismo de componentes con actividad antiinflamatoria.
2. Parece tener mayor afinidad para antagonizar la acción de la histamina que la de la serotonina.
3. A dosis superiores a 150 mg/kg disminuye la formación de tejido granulomatoso en ratas.
4. A las dosis ensayadas no altera el peso del timo ni de las glándulas suprarrenales en ratas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Roig, J.T. (1988) *"Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba"* Tomo I, Ed. Científico Técnica, La Habana, Segunda edición, Primera reimpresión, pág. 134.
2. Luthy, N. & O. Martínez (1964) *Ohio J. Sci.* **64**: 223-4.
3. Deas, M. (1986) *"Estudio de mecanismos de acción hipoglicemiante del Ocimum Sanctum* L. *Efecto sobre la resistencia de la insulina producida por dexametasona"* Resumenes III Simposio Nacional de Plantas Medicinales, La Habana.
4. Crespo, S. (1986) *"Efecto de un extracto acuoso de Ocimum Sanctum L sobre la incorporación de glucosa en adipocitos aislados"*. Resúmenes III Simposio Nacional de Plantas Medicinales, La Habana.
5. Gupta, M.P (1995) *270 Plantas Medicinales Iberoamericanas.* CYTED-SECAB, Santa Fe de Bogotá, págs. 322-4.

6. Narr, H. & H. Wagner (1992) *Planta Med.* **58**: 574-6.
7. Harry, R.G. (1963) *"Cosmetic Materials. Their Origin, Characteristics, Uses, and Dermatological Action"* Chemical Publishing Co., Inc., New York, NY.
8. Kowalewski, Z., M. Kortus, W. Edzia & H. Koniar (1976) *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)* **24**: 115-9.
9. Okazaki, T., M. Suetsugu & T. Yoshida (1987) *"Hair tonics containing oleanolic derivatives"* Chemical Abstracts 107, P161369V
10. Kikuko, T., S. Shigemi, S. Masahiro & M. Tatsu (1993) *"Hair-raising cosmetic"* Japanese Patent. 05286835
11. Winter, C.A., E.A. Risley & G.W. Nuss (1962) *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **111**: 544-7.
12. Ferreira, Sh (1979) *J. Pharm. Pharmacol.* **31**: 648-9.
13. Bailey, Ph. (1982) *Biochem. Pharmacol.* **31**(7): 1213-8.
14. Sigarroa, A. (1985) *"Biometría y Diseño Experimental"*, Ed. Pueblo y Educación, Ciudad Habana, pág. 430
15. Di Rosa, M. & D. A. Willounghby (1971) *J. Pharm. Pharmacol.* **23**: 297-8.
16. Di Rosa M. (1972) *J. Pharm. Pharmacol.* **24**: 89-102.
17. Goodman, A., L. Goodman & A. Gilman (1980) *"Las Bases farmacológicas de la Terapéutica."*, Ed. Científico/Técnico, La Habana, pág, 141.
18. Safayhi, H., B. Rall, E. Sailer & H. Ammon (1997) *J. Pharmacol. Experim. Therap.* **281**: 460-3.
19. Najid, A., A. Simon, J. Cook, H. Chable-Rabinovitch, C. Delage, A. Chulia & M. Riguad (1992) *FEBS* **299**: 213-7.
20. Barghava, K.P. & N. Singh (1981) *Ind. J. Med. Res.* **73**: 443-51.
21. Tsuruga, T., Y. Chun, Y. Ebizuka & U. Sankawa (1991) *Chem Pharm. Bull* **39**(12): 3276-78
22. Rosenkilde, H. (1994) *"Animal and clinical pharmacological techniques in drug evaluation"* (J.H. Nodine & P.E. Siegler, eds.), Year Book Medical Publishers, Chicago, págs. 492-501.