

Actividad antiinflamatoria y analgésica del extracto acuoso de la raíz de *Ruellia tuberosa* L

Anti-inflammatory and Analgesic Activity of the aqueous extract of *Ruellia tuberosa* L root

MARIELLA PASTORELLO¹, CARLOS E CIANGHEROTTI¹, MAIDER VARELA¹,
JOSÉ TOMÁS LÓPEZ-GRAMKO¹, GIOVANINA ORSINI² Y ANITA ISRAEL¹

Resumen

Ruellia tuberosa L. (Acanthaceae) es conocida en Venezuela como «Yuquilla». Ha sido usada en la medicina popular para el tratamiento de diversas enfermedades, como la diabetes, el dolor articular y las afecciones infecciosas de la vejiga y el riñón. Con el fin de caracterizar las propiedades farmacológicas de esta especie y validar su uso, se evaluó el posible efecto antiinflamatorio y analgésico del extracto acuoso de la raíz (RTr) en animales de experimentación. El extracto se obtuvo por decocción de las raíces y fue posteriormente liofilizado. Para determinar el efecto antiinflamatorio de la RT, se evaluó su efecto inhibitorio sobre el desarrollo del edema inducido por la carragenina λ tipo IV en la pata trasera de ratas Sprague-Dawley. El efecto analgésico fue evaluado por la inhibición de las contorsiones inducidas por el ácido acético, en ratones macho Balb-c. RTr inhibió el desarrollo de edema de la pata de la rata inducido por carragenina en un 38,7% y 31,5% a la 1 y 3h, respectivamente. La actividad antiinflamatoria de este extracto fue comparable con la obtenida con la fenilbutazona (antiinflamatorio de referencia) a la dosis de 80 mg/kg. Asimismo, se observó una disminución en el número de contorsiones inducidas por el ácido acético en ratones, con un efecto máximo de 85,7% de reducción a la dosis de 50 mg/Kg, superando al control positivo de ácido salicílico (64,5%). Estos resultados muestran que RTr posee una potente actividad analgésica y antiinflamatoria, contribuyendo así con la validación farmacológica de esta especie.

Palabras clave: *Ruellia tuberosa*, antiinflamatoria, analgesia.

Abstract

Ruellia tuberosa L. (Acanthaceae) is known in Venezuela as «Yuquilla». It has been used in folk medicine to treat various diseases, including diabetes, joint pain and infectious diseases of the bladder and kidney. To characterize the pharmacological properties of this species and validate their use, we decided to evaluate the possible anti-inflammatory and analgesic activity of aqueous extract of the root (RTr) in experimental animals. The extract was obtained by decoction of the roots and was subsequently lyophilized. To determine the anti-inflammatory effect of RTr, we assessed the inhibitory effect on the development of carrageenan-induced edema in hind paw of Sprague-Dawley rats. The analgesic effect was evaluated through the inhibition of writhing induced by acetic acid in Balb-c mice. RTr demonstrated a significant reduction in carrageenan-induced paw edema in 38,7% and 31,5% at 1 and 3h, respectively. The anti-inflammatory properties exhibited by the extract were comparable to that of phenylbutazone (reference AINEs) at a dose of 80 mg/kg. The extract also decreased the acetic acid-induced writhing in mice with a maximum effect of 85.7% reduction at 50 mg/Kg dose, which was better than the positive control acetyl salicylic acid (64,5%). These results show that RTr have a potent analgesic and anti-inflammatory activity, thus contributing to the pharmacological validation of this species.

Key words: *Ruellia tuberosa*, anti-inflammatory, analgesic.

Introducción

Ruellia tuberosa L. (RT) es conocida en Venezuela como escopetera, escopetilla o yuquilla. RT es una de las aproximadamente cincuenta especies de plantas del género *Ruellia*, perteneciente a la familia *Acanthaceae*

(Ahmed, 1997; Lans, 2006; GRIN Database, 2007), originaria de Jamaica, pero ampliamente distribuida en países del pacífico, centro y Suramérica, incluyendo a Venezuela. Esta especie ha sido usada tradicionalmente como depurativa, diaforética, diurética, emética (Ba-

¹ Laboratorio de Neuropeptidos, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

² Herbario «Ovalles», Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

lick y col., 2000; Ososki y col., 2002). Además ha sido empleada para el tratamiento de la bronquitis, constipación, cistitis, fiebre, gonorrea y otras enfermedades venéreas (Ahamed, 1997; Wiart y col., 2005; Lans, 2006; Chen y col., 2006; Phytochemical and Ethnobotanical Databases, 2007). Asimismo, las partes aéreas han mostrado poseer propiedades antioxidantes, gastroprotectoras, analgésicas y antiinflamatorias (Chen y col., 2004; Arambewela y col., 2004; Ashraf y col., 2009). El análisis fitoquímico ha permitido el aislamiento e identificación de una gran variedad de metabolitos secundarios, incluyendo hidrocarburos alifáticos de cadena larga como el tritriacontano, el pentatriacontano y tritriacontano-6-ona (Misra y col., 1997), flavonoides como la apigenina-7- β -D-glucuronido y malvidina 3,5-diglucosido (Wagner y col., 1971; Nair y Subraman, 1974; Behari y col., 1981; Chwan-Fwu L y col., 2006), esteroides y terpenoides como β -sitosterol, campesterol y 21-metildammar-22-en-3 β -18,27-triol (Behari y col., 1981; Singh y col., 2002; Phytochemical and Ethnobotanical Databases, 2007). En el presente trabajo, demostramos la propiedad antiinflamatoria y antinociceptiva del extracto acuoso de las raíces y partes aéreas de *Ruellia tuberosa* en modelos animales.

Materiales y métodos

PLANTAS Y EXTRACTOS

La planta fue recolectada en los jardines de la UCV y un ejemplar *voucher* fue depositado en el Herbario Ovalles de la Facultad de Farmacia de la UCV bajo el número MYF 2631 I. La raíz de la planta fue separada y secada en una estufa a 60 °C durante siete (7) días, cortada en pequeños trozos y sometida a decocción a 60°C durante una (1) hora. El extracto acuoso fue preparado por decocción de la raíz (RTr), fue liofilizado y posteriormente disuelto en solución fisiológica (NaCl 0,9%) al momento del ensayo.

ANIMALES

Para el estudio de la actividad antiinflamatoria, se emplearon ratas macho de la cepa *Sprague-Dawley* (180-220g). Para la determinación de la actividad analgésica, se utilizaron ratones machos de la cepa Balb-c. Todos los animales provinieron del Bioterio de Instituto Nacional de Higiene «Rafael Rangel» (Caracas) y fueron mantenidos en condiciones ambientales estándar y con libre acceso al agua y comida. Los procedimientos empleados en los experimentos fueron sometidos para su aprobación, al Comité de Bioterio de la Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela. Todos los experimentos fueron realizados siguiendo las buenas prácticas para el manejo de animales de laboratorio (NIH Guide, 1996).

ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

Para determinar la actividad antiinflamatoria del extracto acuoso de la raíz de *Ruellia tuberosa* se empleó el método de inducción del edema por carragenina en la pata de rata (Winter, 1962; Bhatt, 1977). Los animales fueron divididos en tres (3) grupos experimentales (N: 8 c/u): 1) Control (Carboximetilcelulosa al 2%, p.o), 2) Fenilbutazona (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, 80 mg/Kg, p.o), usada como antiinflamatorio de referencia, y 3) Extracto acuoso de la RTr (80 mg/Kg, p.o). El edema fue inducido por 0,1 mL de λ -carragenina tipo IV al 1% (en solución salina, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) inyectada en la aponeurosis plantar de la pata trasera de la rata. Una vez transcurrido el tiempo de efecto pico para cada tratamiento (30 min para el extracto y 1h para la fenilbutazona (FBZ), el edema desarrollado fue calculado por el cambio de volumen de la pata usando un pletismómetro digital (Ugo Basile 7140, Italia) antes, 1 y 3h después de la administración de la carragenina.

ACTIVIDAD ANALGÉSICA

Para evaluar el posible efecto analgésico del RTr, se empleó el método de inducción de dolor visceral a través de la administración de un irritante químico (Koster y col., 1959; Zimmermanm 1983; Williamson y col., 1996; Silva y col., 2003; Ahmed y col., 2004). En este método, el ácido acético fue administrado intraperitonealmente a los animales de experimentación con el fin de inducir dolor visceral. Para ello, los animales fueron divididos aleatoriamente en los siguientes grupos (N=7, c/u): 1) Control (NaCl 0,9%); 2) AAS (100 mg/kg, i.p); 3) MOR (3 mg/kg, i.p); 4) RTr (50 mg/kg, i.p); 5) RTr (100 mg/kg, i.p). El estímulo nociceptivo de tipo químico (Ácido Acético 0,6%, i.p) fue aplicado en los ratones 30 minutos después de la administración de cada tratamiento y se contabilizaron individualmente las contorsiones observadas en un período de 20 minutos. AAS: ácido acetil salicílico; Mor: morfina

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados de la actividad antiinflamatoria fueron expresados como la media \pm el error estándar de la media (EEM) del volumen desplazado y como porcentaje de inhibición del edema, calculado mediante la fórmula $(1-Vt/Vc) \times 100$, donde Vt y Vc son el volumen medio de la pata de los animales tratados y control, respectivamente. La diferencia entre el grupo control y los tratados fueron analizados utilizando una prueba de «t de Student» no pareada; un valor de $p < 0,05$ fue considerado como estadísticamente significativo. Los resultados de la prueba de la actividad analgésica fueron analizados mediante el análisis de varianza de una

vía (ANOVA), seguido de la prueba de Newman-Keul para determinar la significancia estadística.

Resultados

ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

La inyección intraplantar de la carragenina desarrolló edema significativo en la pata de la rata control (Figura 1). La FBZ inhibió el desarrollo del edema ~50%, durante el tiempo del ensayo (1 y 3h). De forma comparable, se evidenció una importante actividad antiinflamatoria del RTr, 38,7% y 31,5% a la 1 y 3h, respectivamente (Figura 1 y 2).

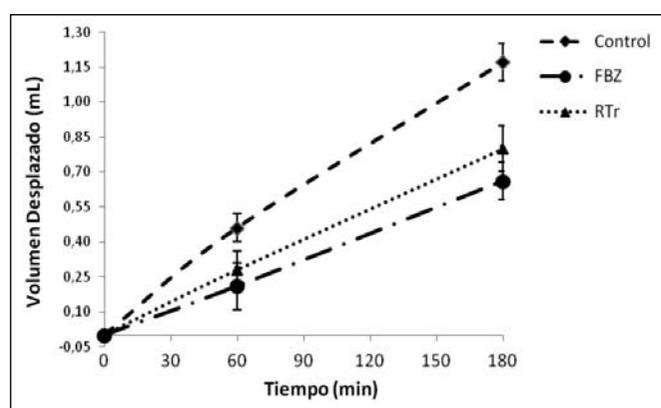


Figura 1. Edema inducido en la pata de la rata a la 1 y 3h después de la inyección de la carragenina, en los diferentes grupos de tratamiento: Control (NaCl 0,9%), Fenibutazona (FBZ) 80 mg/kg y extracto acuoso de *R. tuberosa* (RTr) 80 mg/kg. ** $p < 0,01$.

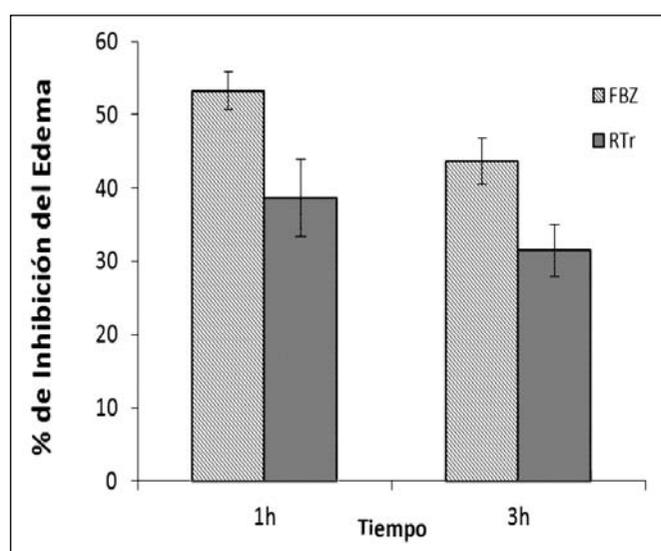


Figura 2. Efecto inhibitorio sobre el desarrollo del edema en la pata de la rata, inducido por carragenina, de la Fenibutazona (FBZ) y el extracto acuoso de la raíz de *R. tuberosa* (RTr) a la 1 y 3h post-carragenina. (Calculado por la diferencia entre el porcentaje de inflamación del grupo control (100%) y el porcentaje de inflamación de cada grupo tratado).

ACTIVIDAD ANALGÉSICA

En la prueba de contorsión inducida por ácido acético, los animales controles mostraron contorsiones del orden cercano a las 30 unidades. El tratamiento con el RTr redujo el número de contorsiones con respecto al control (85,7% para la dosis de 50 mg/kg). Este efecto que fue comparable con el efecto de AAS y menor que la morfina. De igual forma, el efecto de la dosis de 50 mg/Kg fue, a su vez, significativamente mayor que el AAS (64,5%) (Figura 3).

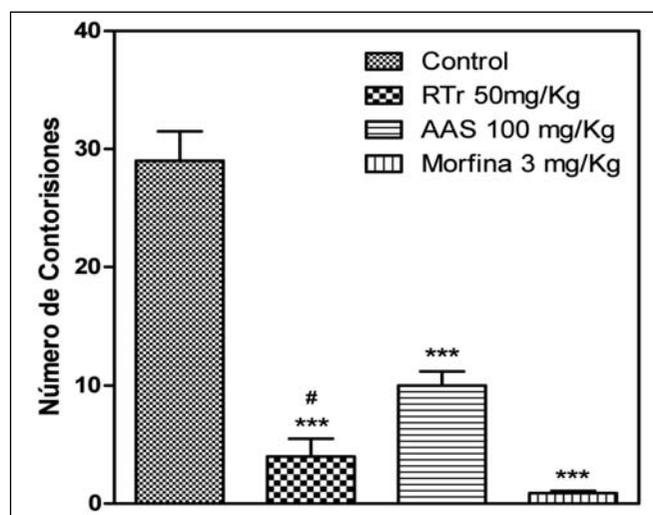


Figura 3. Actividad analgésica del extracto acuoso de la raíz de la *R. tuberosa*. Efecto del RTr, ácido acetil salicílico (AAS) y morfina sobre el número de contorsiones inducido por el ácido acético 0,6% i.p. *** $p < 0,001$ comparado con el grupo control. # $p < 0,05$ comparado con AAS (ANOVA) (N=7).

Discusión

El presente estudio permite demostrar que el extracto acuoso de la raíz de *Ruellia tuberosa* es capaz de inhibir el desarrollo del edema en un modelo de inflamación aguda en ratas, comparable con un antiinflamatorio de referencia. Igualmente indican sin lugar a dudas que el RTr posee una potente actividad analgésica.

De forma general, la aparición del cuadro inflamatorio depende de la liberación de numerosas sustancias que se originan posteriormente al daño tisular, las cuales ejercen, en principio, un papel protector y reparador. En esta respuesta están involucrados los vasos sanguíneos, factores humorales y celulares (Moon y Terhakovec, 1953; Majno y Palade, 1961). Los prostanoídes y leucotrienos, que se obtienen de la vía metabólica del ácido araquidónico, luego de la activación de la fosfolipasa A₂, ciclooxigenasas y lipooxigenasas, son los principales mediadores químicos que participan en la formación del edema (Boyden 1962; Vinegar y col., 1969; Kim 1999). Por otro lado, el dolor, asociado o no al proceso inflamatorio, depende de la activación de nociceptores específicos que responden a potenciales estímulos nocivos, cumpliendo una función

fisiológica indispensable para la salud y supervivencia, pudiendo convertirse sin embargo, en un elemento fisiopatológico cuando la intensidad y la duración ocasionan sufrimiento al individuo. Cada tipo de estímulo nociceptivo está asociado de forma particular con la liberación de sustancias específicas que activan las fibras sensoriales periféricas y transmiten la sensación dolorosa al sistema nervioso central (Craig y col., 2003; Julius y Basbaum, 2001). Se considera que el uso de irritantes químicos en modelos experimentales evoca una respuesta que se asemeja considerablemente al dolor clínicamente agudo. La administración intraperitoneal del ácido acético induce dolor por producción de prostaglandinas, específicamente la PGI₂ y PGE, las cuales causan excitación de las fibras Aδ (Derardt y col., 1980; Duarte y col., 1988). De forma tal, que la producción de prostaglandinas es clave en el desarrollo del edema y dolor. La amplia variedad de flavonoides presentes en los extractos utilizados de *Ruellia tuberosa*, indica que estos podrían ser los principales responsables de su actividad antiinflamatoria y anti-nociceptiva, debido a su conocida capacidad de inhibir a las enzimas que participan en la síntesis de los diferentes eicosanoides. Adicionalmente, se puede inferir la presencia de mecanismos sinérgicos que participan en este efecto. La generación de especies reactivas de oxígeno, luego de la infiltración y activación de neutrófilos hacia el tejido lesionado, inducen la peroxidación no enzimática del ácido araquidónico, dando lugar a la formación de lípidos muy quimiotácticos (Blüml y col., 2008). El grupo de Chen (2004), demostró que *R. tuberosa* L. posee una potente actividad antioxidante. Este efecto podría contrarrestar la peroxidación lipídica inducida por el anión superóxido e inhibir la respuesta inflamatoria. En resumen, la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, así como la reducción del estado oxidativo tisular, podrían ser los mecanismos responsables del efecto analgésico y antiinflamatorio del extracto acuoso de la raíz de *Ruellia tuberosa*.

En conclusión, el extracto acuoso de *Ruellia tuberosa* posee propiedades analgésicas y antiinflamatorias, validando su uso para el tratamiento del dolor y la inflamación. Asimismo, estos resultados sugieren la posibilidad de identificación y aislamiento de los compuestos de interés terapéutico de esta planta, para el desarrollo de nuevos fármacos con potencial uso clínico como antiinflamatorio y analgésico.

Referencias bibliográficas

- Ahmed N. 1997. Wild Flowers of Bangladesh. Dhaka, University Press, p. 40.
- Arambewela LSR, Thambugala R, Ratnasooriya WD. 2004. Gastroprotective activity of *Ruellia tuberosa* root extract in rat. J Trop Med Plants 4 (2): 191-194.
- Ashraful Alam M, Subhan N, Abdul Awal M, Shohidul Alam M, Sarder M, Nahar L, Sarker SD. 2009. Antinociceptive and anti-inflammatory properties of *Ruellia tuberosa*. Pharm Biol 47 (3): 209-214.
- Balick MJ, Kronenberg F, Ososki AL, Reiff M, Fugh-Berman A, O'Connor B, Roble M, Lohr P, Atha D. 2000. Medicinal plants used by Latino healers for women's health conditions in New York City. Econ Bot 54: 344-357.
- Behari N, Goyal MM, Streibk M. 1981. Natural products from *Ruellia tuberosa* L. J Ind Chem Soc 58: 176-177.
- Bhatt KR, Mehta RK, Shrivastava PN. 1977. A simple methods for recording anti inflammatory effects on rat paw edema. Indian J Physiol Pharmacol 21: 399-400.
- Blüml S, Rosc B, Lorincz A, Seyerl M, Kirchberger S, Oskolkova O, Bochkov VN, Majdic O, Igeti E, Stöckl J. 2008. The oxidation state of phospholipids controls the oxidative burst in neutrophil granulocytes. J Immunol 181: 4347-53.
- Boyden S. 1962. The chemotactic effect of mixtures of antibody and antigen on polymorphonuclear leucocytes. J Exp Med 115: 453-466.
- Chen FA, Wu AB, Shieh P, Kuo DH, Hsieh CY. 2006. Evaluation of the antioxidant activity of *Ruellia tuberosa*. Food Chem 94: 14-18.
- Chwan-Fwu L, Yu-Ling H, Lee-Ying C, Shuenn-Jyi S, Chien-Chih C. 2006. Bioactive flavonoids from *Ruellia tuberosa*. J Chin Med 17(3): 103-109.
- Craig AD. 2003. Pain mechanisms: labeled lines versus convergence in central processing. Annu Rev Neurosci 26: 1-30.
- Derardt R, Jougnay S, Delevalccee F, Falhout M. 1980. Release of prostaglandins E and F in an algogenic reaction and its inhibition. Eur J Pharmacol 51: 17-24.
- Duarte IDG, Nakamura M, Ferreira SH. 1988. Participation of the sympathetic system in acetic acid-induced writhing in mice. Braz J Med Biol Res 21: 341-343.
- GRIN Database. 2007. USDA, ARS, National Genetic Resources Program, National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland, USA.
- Julius D, Basbaum AI. 2001. Molecular mechanisms of nociception. Nature 413(6852): 203-210.
- Kim SY, Son KH, Chang HW, Kang SS, Kim HP. 1999. Inhibition of mouse ear edema by steroidal and triterpenoid saponins. Arch Pharm Res 22: 313-316.
- Koster R, Anderson M, De-Beer EJ. 1959. Acetic acid for analgesic screening. Fed Proc 18: 412-418.
- Lans CA. 2006. Ethnomedicines used in Trinidad and Tobago for urinary problems and diabetes mellitus. J Ethnobiol Ethnomed 2: 45-47.
- Majno G, Palade GE. 1961. Studies on inflammation. The effect of histamine and serotonin on vascular permeability: an electron microscopic study. J Biophys Biochem Cytol 11:571-605.
- Misra TN, Singh RS, Pandey RP, Singh BK. 1997. Two new aliphatic compounds from *Ruellia tuberosa* L. Indian J Chem B 36: 1194-1197.

- Moon VH, Tershakovec GA. 1953. Dynamics of inflammation and of repair. Effects of tissue extracts and of protein split products upon capillary permeability and upon leucocytes. *AMA Arch Pathol* 55(5): 384-392.
- Nair AGR, Subraman SS. 1974. Apigenin glycosides from *Thunbergia fragrans* and *Ruellia tuberosa*. *Curr Scir India* 43: 480-482.
- NIH. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. National Academy Press. 1996.
- Ososki AL, Lohr P, Reiff M, Balick MJ, Kronenberg F, Fugh-Berman A, O'Connor B. 2002. Ethnobotanical literature survey of medicinal plants in the Dominican Republic used for women's health conditions. *J Ethnopharmacol* 79: 285-298.
- Phytochemical and Ethnobotanical Databases. 2007. Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases, USA.
- Silva J, Abebe W, Sousa SM, Duarte VG, Machado MI, Matos FJ. 2003. Analgesic and anti-inflammatory effects of essential oils of *Eucalyptus*. *J Ethnopharmacol* 89: 277-283.
- Singh RS, Pandey HS, Pandey RP, Singh BK. 2002. A new tri-terpene from *Ruellia tuberosa* L. *Indian J Chem B* 41: 1754-1756.
- Vinegar R, Schreiber W, Hugo R. 1969. Biphasic development of carrageenan in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 166: 96-103.
- Wagner H, Danninge H, Iyengar MA, Seligman O, Farkas L, Subraman SS, Nair AGR. 1971. Synthesis of glucuronides in flavonoid-series. 3. Isolation of apigenin 7-beta-d-glucuronide from *Ruellia tuberosa* L. and its synthesis. *Chem Ber-Recl* 104: 2681-2685.
- Wiat C, Akaho E, Hannah M, Yassim M, Hamimah H, Au TS, Sulaiman M. 2005. Antimicrobial activity of *Ruellia tuberosa* L. *Am J Chinese Med* 33: 683-685.
- Williamson EM, Okpako DT, Evans FJ. Pharmacological methods in phytotherapy research. *In: Selection, Preparation, Pharmacological Evaluation of Plant Materials*, Vol. 1. Chichester, John Wiley, 1996. pp. 184-186.
- Winter A, Risley E, Nuss G. 1962. Carrageenin-induced Edema in Hind paw as an Assay for Anti-inflammatory Drugs. *P Soc Exp Biol Med* 111: 554-547.
- Zimmermann M. 1983. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 16: 109.