

Hospital Militar Central "Dr. Luis Díaz Soto"

EVALUACIÓN DE LA ACCIÓN ANTIINFLAMATORIA DEL PRODUCTO FL-1

Tte. Cor. Mario González-Quevedo Rodríguez,¹ Ing. María Larionova² Lic. Ana M. Martínez González³ y Téc. Orlando Marrero González⁴

RESUMEN

Se evaluó la acción antiinflamatoria del producto herbario FL-1 (nueva C-glucosil flavona) con la utilización del modelo de edema de la pata inducido por formaldehído. Se estudiaron 4 grupos de ratas Wistar: grupo I con dosis de 0,2 mg de FL-1 por kg de peso, grupo II con dosis de 0,3 mg de FL-1 por kg de peso, grupo III con dosis de 18 mg de neomelubrina por kg de peso y grupo IV sin tratamiento. Las mediciones para apreciar cambios de volumen de las patas se efectuaron al inicio, a las 24 y 48 h. El estudio estadístico fue realizado con la prueba de Kruskal-Wallis (α : 0,05). Hubo diferencias significativas en las mediciones de 24 h entre el I y el IV. A las 48 h también hubo diferencias significativas entre los grupos I y IV; II y IV; III y IV. Los resultados indicaron que el producto FL-1 posee acción antiinflamatoria sobre el edema de la pata inducido por formaldehído.

DeCS: FLAVONAS/análisis; MEDICINA HERBARIA; AGENTES ANTIINFLAMATORIOS; RATAS WISTAR.

Es conocida la diversidad de flavonoides que existen en las plantas, principalmente en los vegetales, granos, frutas, hojas y flores. Algunos son utilizados en la elaboración de fármacos como sucede con la quercetina por su poder restaurador sobre la pared vascular, muy indicada en pacientes con fragilidad capilar.¹ El flavonoide rutina (quercetin-3-rhamnoglucoside) se ha empleado como agente protector de los rayos X cuando está presente la hemorragia cutánea.²

Los flavonoides también se caracterizan por sus propiedades antiinflamatorias³⁻¹¹ y otras no menos importantes como son las antioxidantes, antihistamínicas, antivirales y anticancerosas,¹² sin olvidar la acción antiespasmódica que poseen algunos flavonoides, como la apigenina (también antiinflamatoria), contenida en las flores de *Matricaria recutita* L. (manzanilla), muy comercializada en el mundo.^{13,14}

¹ Doctor en Ciencias Médicas. Investigador Titular.

² Investigadora Agregada.

³ Licenciada en Matemática.

⁴ Técnico A en Investigaciones Fisiológicas.

El mecanismo de acción del efecto antiinflamatorio de los flavonoides radica en la disminución de la formación de mediadores proinflamatorios como prostaglandinas, leucotrienos y óxido nítrico, mientras que el del efecto anticanceroso parece estar muy relacionado con la acción antiinflamatoria. Así lo demuestran los estudios de *Narizawa*¹⁵ con la indometacina y otras drogas antiinflamatorias (incluidas las de fuentes naturales) que fueron capaces de inhibir la inducción de cáncer de colon en ratas, así como de reducir la poliposis adenomatosa colorrectal de pacientes después de varios meses de tratamiento.

En el Laboratorio de Medicina Herbaria del Hospital Militar Central "Dr. Luis Díaz Soto" fue aislado un flavonoide a partir de las hojas de *Piper ossanum* Trel (platanillo de Cuba) durante el fraccionamiento del extracto acuoso para otros fines investigativos, que correspondió a una nueva C-glicosil flavona. Sus descubridores, *Larionova M*, *Martínez J* y *Vélez M*, presentaron sus resultados en el II Simposio Internacional de Plantas Medicinales, Ciencia y Homeopatía, efectuado en Ciudad de La Habana en noviembre de 1998. Dicho compuesto se identificó como 2"-o-ramnosil 4"-o-metil-vetexina con el código FL-1.

Acercas de las hojas de *Piper ossanum*, *Roig*¹⁶ señaló que poseen propiedades diuréticas, hemostáticas, antisépticas y cicatrizantes. En Cuba las más utilizadas por la medicina popular son las diuréticas y las hemostáticas.

Por tratarse el FL-1 de una nueva molécula, se hizo necesario conocer sus propiedades farmacológicas y posibilidades terapéuticas.

Las 2 primeras investigaciones farmacodinámicas realizadas en el citado laboratorio fueron: 1) la evaluación de la

actividad antimicrobiana *in vitro* sobre 3 cepas bacterianas y una de monilias, cuyos resultados fueron negativos, y 2) la evaluación de la actividad antiulcerosa, con resultados positivos, presentados por los investigadores *Apecechea M*, *Larionova M*, *Salazar S* y *Abín G* en la IX Jornada Científica Interna del Laboratorio de Medicina Herbaria, en abril de 1999.

El presente estudio da a conocer los resultados obtenidos en la evaluación farmacológica del flavonoide FL-1 como antiinflamatorio.

MÉTODOS

El modelo experimental utilizado fue el edema de la pata por formaldehído al 3 % (Merck), sustancia irritante que en cantidad de 0,1 mL fue inyectada en las regiones subplantares derechas y posteriores de ratas Wistar macho, con pesos entre 200 y 250 g.

La concentración de formaldehído de 3,5 %, utilizada por *Weninger B* y otros,¹⁷ fue disminuida con el objetivo de evitar la necrosis de la piel, mostrada por la mayoría de los animales en el sitio de la inyección y observada cuando se empleó la primera vez dicha concentración.

Un total de 55 ratas fueron incluidas en el estudio mediante aleatorización simple para formar 4 grupos: el grupo III con 13 animales y el resto con 14. El cuarto grupo (G-IV) constituyó el control negativo o sin tratamiento a diferencia de los grupos I y II, tratados respectivamente con dosis de 0,2 y 0,3 mg de FL-1 por kg de peso. Los animales del grupo III o control positivo recibieron dosis de 18 mg de neomelubrina (dipirona) por kg de peso. La vía de administración fue intramuscular, tanto del FL-1 como de la dipirona, y siempre 3 h después de haberse introducido el formaldehído en las patas.

La presentación del flavonoide FL-1 es en forma de polvo y se hizo necesario diluirlo convenientemente con volúmenes de hasta 150 µL para asegurar las dosis requeridas.

Tanto los volúmenes de las patas normales como las afectadas con edema, se midieron con un pletismógrafo mediante la observación directa de los microlitros de agua desplazada por el mercurio de sus vasos comunicantes. De igual forma se midieron las patas izquierdas posteriores sin inyectar (normales) para que sirvieran como control del equipo y de la técnica en general.

Todas las mediciones fueron hechas diariamente durante 3 días; las del primer día, antes de la inyección del formaldehído.

Para facilitar las mediciones, cada rata fue anestesiada siempre con 35 mg de pentobarbital sódico por kg de peso, vía intraperitoneal.

En el procesamiento de los resultados fue necesario comprobar los datos mediante la aplicación de la prueba de normalidad y la elaboración del gráfico del Normal Probability Plot. La inexistencia de normalidad determinó la aplicación de la prueba de Kruskal-Wallis y *a posteriori* la de Dunn, para conocer los grupos con diferencias significativas. Para ambas pruebas se planteó un nivel de significación de 95 % ($\alpha: 0,05$).

RESULTADOS

Según los volúmenes desplazados durante las mediciones de las patas derechas de los diferentes grupos (tablas 1-4), el mejor resultado se obtuvo con la dosis de 0,2 mg de FL-1 por kg de peso.

TABLA 1. Medias y desviaciones típicas de los microlitros desplazados por las patas derechas. Grupo I: 0,2 mg de FL-1/kg

	Basal	24 h	48 h
Media	24,21	40,85	29,71
Desviación típica	1,31	7,14	3,45

TABLA 2. Medias y desviaciones típicas de los microlitros desplazados por las patas derechas. Grupo II: 0,3 mg de FL-1/kg

	Basal	24 h	48 h
Media	23,21	42,07	36,21
Desviación típica	1,42	6,18	15,54

TABLA 3. Medias y desviaciones típicas de los microlitros desplazados por las patas derechas. Grupo III: 18 mg de FL-1/kg

	Basal	24 h	48 h
Media	23,53	43,61	32,30
Desviación típica	1,56	9,10	5,52

TABLA 4. Medias y desviaciones típicas de los microlitros desplazados por las patas derechas. Grupo IV: sin tratamiento

	Basal	24 h	48 h
Media	23,28	49,85	37,92
Desviación típica	1,63	7,23	4,93

Los volúmenes medios desplazados por las patas izquierdas fueron muy similares entre sí en todos los grupos y en los diferentes días (tablas 5-8).

TABLA 5. Medias y desviaciones típicas de los microlitros desplazados por las patas izquierdas del grupo I

	Basal	24 h	48 h
Media	23,85	24,21	23,92
Desviación típica	1,29	1,31	1,26

TABLA 6. Medias y desviaciones típicas de los microlitros desplazados por las patas izquierdas del grupo II

	Basal	24 h	48 h
Media	22,92	23,14	23,71
Desviación típica	0,99	1,09	1,81

TABLA 7. Medias y desviaciones típicas de los microlitros desplazados por las patas izquierdas del grupo III

	Basal	24 h	48 h
Media	23,20	23,53	23,38
Desviación típica	1,31	1,45	1,44

Tabla 8. Medias y desviaciones típicas de los microlitros desplazados por las patas izquierdas del grupo IV

	Basal	24 h	48 h
Media	23,14	23,21	23,28
Desviación típica	1,56	1,57	1,48

DISCUSIÓN

En la comparación de los volúmenes desplazados por las patas derechas a las 24 y 48 h de cada grupo con los volúmenes iniciales antes de la inyección de formaldehído, la prueba de Kruskal-Wallis mostró diferencias altamente significativas ($p = 0,0000$). Lo contrario sucedió cuando se compararon los volúmenes que desplazaron las patas izquierdas de cada grupo.

En el segundo análisis, que consistió en comparar entre sí los volúmenes que desplazaron las patas derechas de los gru-

pos, tanto al inicio del estudio como a las 24 y a las 48 h, los resultados mostraron que no hubo diferencias entre los volúmenes desplazados basales ($p = 0,2692$) y sí entre los de 24 h ($p = 0,0127$) y entre los de 48 h ($p = 0,0015$). Entre los volúmenes de las patas izquierdas basales no hubo diferencias significativas ($p = 0,4998$) ni a las 24 h ($p = 0,1625$) ni a las 48 h ($p = 0,5814$).

Cuando se aplicó la prueba de Dunn a los volúmenes basales, de 24 y de 48 h, correspondientes a las patas derechas de cada grupo, se observó que en los volúmenes del grupo I hubo diferencias significativas entre los de 24 h y los basales; entre los de 48 y 24 h, y entre los basales y 48 h ($p \leq 0,05$). En el grupo II, hubo diferencias similares entre esos mismos volúmenes e igual sucedió en el grupo IV. En el grupo III tratado con dipirona no hubo diferencias significativas entre los volúmenes de las 48 y 24 h.

La prueba de Dunn fue aplicada también a todos los volúmenes de 24 h y después a los de 48 h. En los de 24 h mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) solo entre el grupo IV y I. En los de 48 h, entre el grupo I y el IV, entre el III y el IV, y entre el II y el IV. En cambio, no hubo diferencias entre los grupos I y II, I y III, y II y III.

El hecho de no haber diferencias entre los volúmenes desplazados por las patas izquierdas indicó la buena calidad técnica de las mediciones realizadas.

Estos resultados sugirieron que el flavonoide FL-1 administrado en dosis de 0,2 y 0,3 mg/kg de peso fue eficaz para reducir el edema de la pata inducido por formaldehído al 3 %.

SUMMARY

It was evaluated the antiinflammatory action of the FL-1 herbal product (new C-glycosyl flavone) by using the model of leg edema induced by formaldehyde. 4 groups of Wistar rats were studied: group I with a dose of 0.2 mg of FL-1 per kg of weight, group II with a dose of 0.3 mg per kg of weight, group III with a dose of 18 mg

of neomelubrine per kg of weight, and group IV without treatment. The measurements to observe changes of volume of the legs were made at the beginning, at 24 and 48 hours. The statistical study was carried out by the test of Kruskal-Wallis (α : 0,05). There were significant differences in the measurements at 24 hours between the group I and IV. Marked differences were also observed at 48 hours between groups I and IV; II and IV; III and IV. The results showed that the FL-1 product has an antiinflammatory effect on the leg edema induced by formaldehyde.

Subject headings: FLAVONES/analysis; MEDICINE, HERBAL; ANTI- INFLAMMATORY AGENTS; RATS, WISTAR.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cuellar A. Quinonas, flavonoides, lignanos y coumarinas. En: Química de los fármacos naturales. La Habana: Ministerio de Educación Superior; 1983:14.
2. Burke Taylor N, Ellsworth Taylor A. Stedman's Medical Dictionary. 19 ed. Baltimore: Williams Wilkins; 1957:1244.
3. Shaltasa H, Bermejo P, Lázani D, Silvan AM, Skaltsounis AL, Sanz A, et al. Inhibition of prostaglandin E2 and leukotriene C4 in mouse peritoneal macrophages and thromboxane B2 production in human platelets by flavonoids from *Stachys chrysantha* and *Stachys candida*. Biol Pharm Bull 2000;23(1):47-53.
4. Ishiwa J, Sato T, Mimaki Y, Sashida Y, Yano M, Ito A. A citrus flavonoid, nobiletin, suppresses production and gene expression of matrix metalloproteinase 9/ gelatinase B in rabbit synovial fibroblasts. J Rheumatol 2000;27(1):20-5.
5. Singh Rk, Acharya SB, Bhattacharya SK. Pharmacological activity of *Elaeocarpus sphaericus*. Phytother Res 2000;14(1):36-9.
6. Wakabayashi I. Inhibitory effects of baicalein and wogonin on lipopolysaccharide induced nitric oxide production in macrophages. Pharmacol Toxicol 1999;84(6):288-9.
7. Manez S, Recio MC, Gil I, Gómez C, Giner RM, Waterman PG, et al. A Glycosyl analogue of diacylglycerol and other antiinflammatory constituents from *Inula viscosa*. J Nat Prod 1999;62(4):601-4.
8. Peizer LE, Guardia T, Osvaldo Juárez A, Guerreiro E. Acute and chronic antiinflammatory effects of plant flavonoids. Farmaco 1998;53(6):421-4.
9. Rohnert U, Schneider W, Elstner EF. [Superoxide- depended and independent nitrite formation from hydroxylamine: inhibition by plant extracts.] Z Naturforsch [G] 1998;53(3-4):241-9.
10. Martínez J, Silvan AM, Abad MJ, Bermejo P, Villar A, Sollhuber M. Isolation of two flavonoids from *Tanacetum microphyllum* as PMA- induced ear edema inhibitors. J nat Prod 1997;60(2):142-4.
11. Robak J, Gryglewski RJ. Bioactivity of flavonoids. Pol J Pharmacol 1996;48(6):555- 64.
12. Middleton EJr. Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. And Exp Med Biol 1998;439:175-82
13. Brandao MGL, Freire N, Vianna- Soares CD. [Surveillance of phytotherapeutic drugsn the state of Minas Gerais. Quality assessment of commercial samples of chamomile]. Cad Saude Publica 1998;14(3):613-6.
14. WHO. Monographs on selected medicinal plants. Geneva: World Health Organization; 1999; vol1:86-94.
15. Narizawa T. An overview on chemoprevention of colorectal cancer. Nippon Gerka Gekka Zasshi 1998;99(6):362-7.
16. Roig JT. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. La Habana: Ciencia y Técnica; 1974.
17. Weniger B, Robineau L. Seminario Tramil 3. Investigaciones Científicas y uso popular de plantas medicinales en el Caribe. Topes de Collante, Cuba: Ed. Tele 3; 1988:132-4.

Recibido: 21 de diciembre de 2002. Aprobado: 25 de enero de 2003.

Tte. Cor. *Mario González-Quevedo Rodríguez*. Hospital Militar Central "Dr. Luis Díaz Soto". Avenida Monumental, Habana del Este, CP 11700, Ciudad de La Habana, Cuba.