

Actividad expectorante de formulaciones a partir de *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng (orégano francés)

Expectorant activity of formulations from *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng (French oregano)

Pedro Barzaga Fernández^I; Juana Tillán Capó^{II}; Gisela Marrero Cofiño^{III}; Carmen Carrillo Domínguez^{IV}; Addis Bellma Menéndez^V; Claudia Montero Alarcón^{IV}

^I Licenciado en Ciencias Farmacéuticas. Investigador Agregado. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). Ciudad de La Habana, Cuba.

^{II} Doctora en Ciencias Veterinarias. Licenciada en Bioquímica Farmacéutica. Investigadora Auxiliar. CIDEM. Ciudad de La Habana, Cuba.

^{III} Licenciada en Ciencias Farmacéuticas. Investigador Agregado. Centro de Bioproductos Marinos. Ciudad de La Habana, Cuba.

^{IV} Técnica en Farmacia. CIDEM. Ciudad de La Habana, Cuba.

^V Máster en Fisiología Animal. Licenciada en Biología. Investigadora Agregada. CIDEM. Ciudad de La Habana, Cuba.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng, es una especie vegetal de amplio uso popular por sus propiedades antiasmáticas, broncodilatadoras y anticatarrales.

OBJETIVO: evaluar el efecto expectorante de varias formulaciones.

MÉTODOS: se ensayaron los efectos de extractos, jarabes y tabletas obtenidas a partir de partes aéreas secas de *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng mediante el método de coloración con rojo fenol de la secreción traqueobronquial en ratones.

RESULTADOS: la administración de extracto acuoso y extracto fluido, así como de los jarabes obtenidos de los extractos, produjeron incrementos significativos de la concentración de rojo fenol en la secreción traqueobronquial de ratón. Tanto el extracto acuoso como el hidroalcohólico presentan actividad expectorante; el jarabe preparado con extracto acuoso fue efectivo a dosis de 50 mL/kg, con una dosis efectiva media de 41,91 mL/kg; el jarabe preparado con extracto fluido fue efectivo a dosis de 50 y 37,5 mL/kg, con dosis efectiva media de 34,64 mL/kg; y las

tabletas de 100 mg ejercieron efecto expectorante a las dosis de 34 y 68 mg/kg. A su vez la administración aguda de tabletas de 100 mg ejerció un efecto expectorante, similar al de la bromhexina y el salbutamol.

CONCLUSIONES: las formulaciones mostraron efecto expectorante en las condiciones experimentales del estudio.

Palabras clave: *Plectranthus amboinicus*, ratones, actividad expectorante, rojo fenol, secreción traqueobronquial.

ABSTRACT

INTRODUCTION: *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng is a widely used vegetable species because of its antiasthma, bronchodilating and antifu properties.

OBJECTIVES: to evaluate the expectorant effect of several formulations.

METHODS: the effects of extracts, syrups and tablets obtained from *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng dry leaves through the staining method using tracheobronchial secretion red phenol in mice.

RESULTS: the administration of aqueous extract and of fluid extract as well as the syrups produced from the extracts resulted in significant increase of red phenol concentration in the tracheobronchial secretion of mice. Both the aqueous and the hydroalcohol extracts have expectorant activity; the aqueous extract-made syrup was effective at 50 mL/kg dose, with an effective mean dose of 41,91 mL/kg; fluid extract-made syrup was effective at 50 and 37,5 mL/kg, being 34,64 mL/kg the effective mean dose and finally 100 mg tablets showed their expectorant action at doses of 34 and 68 mg/kg. In turn, the acute administration of 100mg tablets had the same expectorant effect as bromhexine and salbutamol.

CONCLUSIONS: these formulations showed some expectorant effect under the experimental conditions of the study.

Key words: *Plectranthus amboinicus*, mice, expectorant activity, red phenol, tracheobronchial secretion.

INTRODUCCIÓN

Los fármacos que actúan sobre el tracto respiratorio pueden modificar la secreción y la motilidad bronquial.¹

Las drogas que actúan sobre la motilidad bronquial son broncoconstrictoras o broncodilatadoras pero como es evidente, solo son de interés farmacológico por su aplicación clínica las que dilatan los bronquios, porque pueden utilizarse en el asma bronquial, el proceso más frecuente en que está implicada la motilidad bronquial.¹ Dentro de las que modifican la secreción, en primer lugar, se trata de drogas que aumentan las secreciones y así ayudan a su eliminación, reciben el nombre de drogas expectorantes.^{1,2}

Existen drogas capaces de calmar la tos, las cuales se denominan antitusivos.^{1,2}

Los expectorantes son drogas que activan la expulsión (eliminación) del esputo o expectoración, bien porque aumentan las secreciones traqueobronquiales o líquido del tracto respiratorio para reducir su viscosidad, o porque estimulan el reflejo de la tos.^{1,2}

El demulcente intenta "suavizar" la mucosa, le proporciona una sensación de alivio en caso de tos seca o irritante.¹ Por otra parte, al aumentar las secreciones, los expectorantes tienden a aliviar la tos por causa de la presencia de una secreción espesa e irritante y, además, el mucus secretado, demulcente natural, protege la mucosa inflamada y disminuye el reflejo tusígeno; los expectorantes se comportan entonces como calmantes de la tos, cuando es improductiva.^{1,2}

Afines a los expectorantes son los mucolíticos, drogas que tienen la propiedad de modificar las características físico-químicas de las secreciones traqueobronquiales, al disminuir su viscosidad y, de esta forma, favorecen su expulsión, o sea, la expectoración. Clásicamente se consideran como mucolíticos los fármacos que poseen solo la capacidad de hacer más fluida la secreción existente sin aumentar su nivel. Sin embargo, existen drogas como la bromhexina que poseen ambas propiedades.²

A *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng, conocido como orégano francés, se le atribuyen propiedades anticonvulsivas, antiepilépticas, antiasmáticas, antiespasmódicas, sedantes, broncodilatadoras y antimicrobianas.³

En Cuba se utiliza principalmente como condimento, aunque también en remedios caseros en cocimiento contra los catarros. Tanto en nuestro país como en Viet Nam se utiliza en el asma y catarros crónicos, la epilepsia, y otras afecciones convulsivas. Además se le atribuyen propiedades antiflogísticas y sedantes.³

Recientemente se halló que la administración durante 10 d de tabletas de *P. amboinicus*, obtenidas a partir del polvo del extracto acuoso de hojas secas, produjo inhibición de la anafilaxia pasiva cutánea en ratas. Estas tabletas también potencian la transmisión adrenérgica y el bloqueo de receptores histamínicos.⁴ El empleo de esa formulación se sugirió para el tratamiento profiláctico de enfermedades alérgicas de tipo I. El efecto antitusivo del *P. amboinicus* fue demostrado en las tabletas y el jarabe (Núñez Y, Tillán J, Carrillo C, Menéndez R, Pavón V, León R. Evaluación de la actividad antitusiva del *Plectranthus amboinicus* [Lour] Spreng tabletas 100 mg. Informe de Estudio, 2001).

Con estos antecedentes el objetivo de este trabajo consistió en la evaluación de la actividad expectorante de varias formulaciones de *P. amboinicus*.

MÉTODOS

Reactivos químicos

Hidróxido de sodio (Merck), rojo fenol (Merck), salbutamol (QUIMEFA), carboximetilcelulosa (Boehringer Mannheim), bromhexina (Boehringer Mannheim).

Material vegetal, extractos y formulaciones

El material vegetal (partes aéreas) fue colectado en la Estación Experimental de Plantas Medicinales "Juan Tomás Roig" y una muestra fue depositada en el herbolario de la propia estación con el número Roig 45797.

La elaboración de los extractos hidroalcohólico (5 %) y acuoso (10 %) fue realizada con las partes aéreas secas de la planta.

Formulaciones: tabletas, se trabajó con tabletas de orégano a partir del polvo seco de extracto acuoso de *P. amboinicus*, que contenían 100 mg del polvo.

Jarabes: se realizaron formulaciones de jarabe a partir del extracto acuoso y del hidroalcohólico de *P. amboinicus*. El contenido de extracto por cada 100 mL de jarabe no era mayor que 11,6 mL y 16 mL, respectivamente. La cantidad de extracto en el jarabe se determinó tomando en consideración el contenido total de fenoles, que no debe ser mayor que 2,1 mg por cada 100 mL de jarabe.

Material biológico

Ratones albinos suizos machos de 25 a 30 g procedentes de la UCTB Control Biológico del Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). Los animales permanecieron 7 d antes de iniciar el ensayo en salas con condiciones de temperatura controlada de 22 ± 2 °C, ciclos de luz-oscuridad de 12 h, cama con viruta y cambio cada 48 h. Durante este período los animales se alimentaron con pienso paletizado CMO 1000 elaborado por el Centro Nacional para la producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB), y agua a libre demanda.

Todos los animales fueron sometidos a un período de ayuno de 16 h, aunque se les permitió el libre acceso al agua, que les fue retirada 1 h antes de efectuar los tratamientos.

Procedimiento

Los animales fueron distribuidos (n= 10) al azar en grupos de tratamiento según los esquemas siguientes:

En una primera experiencia se determinó el efecto estimulante sobre las secreciones traqueobronquiales de extractos y jarabes obtenidos a partir de *P. amboinicus* a diferentes dosis, expresadas en el volumen en mL/kg de peso corporal administrados, con el objetivo de determinar las dosis efectivas del extracto y el jarabe.

Tratamiento: dosis

Control: -

Extracto acuoso: 50 mL/kg

Extracto fluido: 50 mL/kg

Placebo (mL/kg): 50 mL/kg

Jarabe (extracto acuoso): 25 mL/kg

Jarabe (extracto acuoso): 37,5 mL/kg

Jarabe (extracto acuoso): 50 mL/kg

Jarabe (extracto fluído): 25 mL/kg

Jarabe (extracto fluído): 37,5 mL/kg

Jarabe (extracto fluído): 50 mL/kg

Bromhexina: 25 mg/kg

Salbutamol: 2 mg/kg

Salbutamol: 4 mg/kg
Salbutamol: 5 mg/kg
Salbutamol: 7,35 mg/kg

Posteriormente se confirmó la existencia de esta actividad para el jarabe preparado a partir del extracto acuoso a la dosis efectiva media calculada.

Tratamiento: dosis

Agua: 40 mL/kg
Placebo: 40 mL/kg
Jarabe: (extracto acuoso *P. amboinicus*) 40 mL/kg
Bromhexina: 40 mg/kg
Salbutamol: 4 mg/kg

En una última experiencia se determinó el efecto expectorante de formulaciones sólidas (tabletas) a partir del extracto acuoso seco de *P. amboinicus*.

Tratamiento: dosis (mg/kg)

Carboximetilcelulosa: -
Tabletas *P. amboinicus*: 17
Tabletas *P. amboinicus*: 34
Tabletas *P. amboinicus*: 68
Bromhexina: 40
Salbutamol: 2
Salbutamol: 4

Las dosis y concentraciones de *P. amboinicus* se expresaron sobre la base de los 100 mg de polvo de extracto acuoso contenidos en cada una de las tabletas. En el caso de los controles positivos empleados, estos datos se expresaron sobre la base de bromhexina clorhidrato y salbutamol sulfato, respectivamente.

La medición de la concentración de rojo fenol en la secreción traqueobronquial del ratón se llevó a cabo mediante el método de *Coppi y Gatti*.⁵

Los tratamientos fueron llevados a cabo por vía oral 30 min antes de que el rojo fenol 1 % fuese inyectado intraperitonealmente (100 mg/kg en 10 mL/kg). Los ratones que recibieron agua funcionaron como grupo control. Los animales se sacrificaron 30 min después de la inyección del colorante, cuyas tráqueas fueron expuestas y canutadas con catéteres, a través de los cuales se llevaron a cabo 6 lavados pulmonares con 0,5 mL de solución salina fisiológica cada uno. El líquido de lavado fue colectado y centrifugado a 1 600 g por 30 min. A 1 mL del sobrenadante se le adicionó 0,1 mL de NaOH 0,01 N para medir la absorbancia a una longitud de onda de 546 nm. La concentración de rojo fenol fue determinada por espectrofotometría mediante una curva de calibración de rojo fenol, en un rango de concentraciones de 0,25 a 2,5 µg/mL.

Los resultados fueron expresados como la media \pm desviación estándar, se procesaron estadísticamente por un análisis de varianza de una vía (ANOVA) seguido de una prueba de *Duncan* para la comparación de las medias, utilizando un nivel de significación de $p < 0,05$. El incremento en la concentración de rojo fenol

fue determinado mediante la comparación del valor medio de la concentración del grupo tratado con el del grupo control.⁶

El presente trabajo se realizó de acuerdo con las regulaciones internacionales y las normas éticas fijadas por el Consejo de Organizaciones Internacionales de Ciencias Médicas (CIOMS), establecidas para los ensayos preclínicos con animales de experimentación.⁷

RESULTADOS

En la [figura 1](#) se puede apreciar el efecto de las formulaciones sobre las concentraciones del rojo fenol en las secreciones traqueales de ratón.

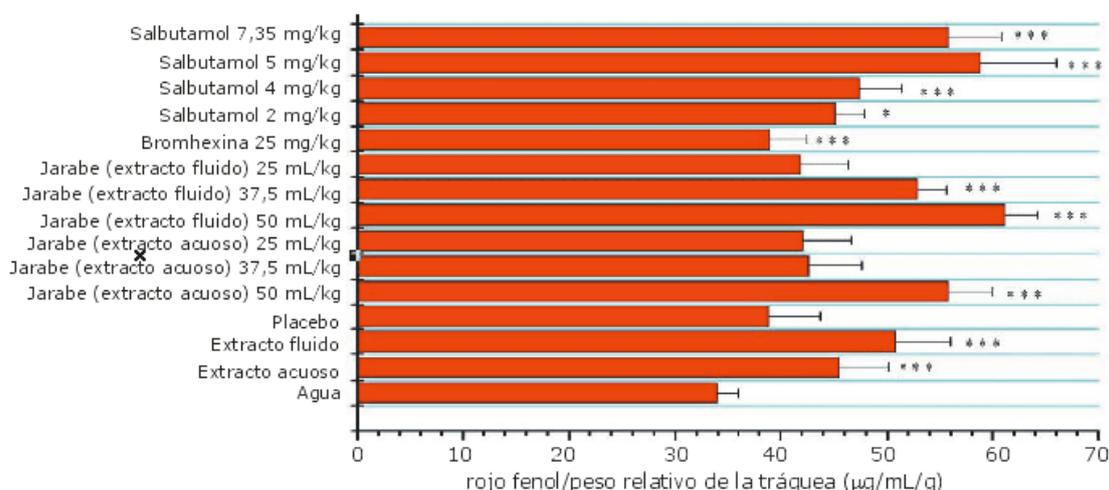


Fig. 1. Efecto del extracto acuoso, extracto fluido, jarabe del extracto acuoso, jarabe del extracto fluido, bromhexina y salbutamol sobre la concentración de rojo fenol en la secreción traqueobronquial de ratón (*, **, *** son estadísticamente diferentes con respecto al grupo control para $p < 0,05$, $p < 0,01$ y $p < 0,001$).

Los resultados revelan que tanto el extracto acuoso como el hidroalcohólico presentan actividad expectorante, al mostrar un incremento porcentual de la concentración de rojo fenol superior a 30 % con respecto al grupo control, según lo planteado por *Nardi*.⁸

Estadísticamente la concentración del colorante en los grupos tratados con los extractos fue significativamente mayor ($p < 0,001$) que la concentración del grupo control.

Ambos jarabes de *P. amboinicus* incrementaron de modo significativo ($p < 0,001$) la concentración de rojo fenol, a la dosis de 50 mL/kg para el jarabe a partir del extracto acuoso, y de 37,5 y 50 mL/kg para el jarabe obtenido del extracto hidroalcohólico.

Los valores de incremento de concentración del rojo fenol en los grupos tratados con las dosis efectivas señaladas antes para los jarabes de *P. amboinicus*, no mostraron diferencias significativas con los porcentajes de incremento alcanzados con bromhexina a 25 mg/kg y con salbutamol a 7,35 mg/kg.

La DE₅₀ de los jarabes elaborados a partir del extracto acuoso e hidroalcohólico fueron las siguientes: 41,91 y 34,64 mL/kg, respectivamente.

Después de 30 min de su inyección, la concentración de rojo fenol en el grupo tratado con agua se movió entre 0,48 y 0,86 mg/mL (datos no mostrados). En la [figura 2](#) se puede observar el efecto del jarabe de *P. amboinicus* obtenido a partir del extracto acuoso, a la dosis de 40 mL/kg, bromhexina y salbutamol sobre la concentración de rojo fenol.

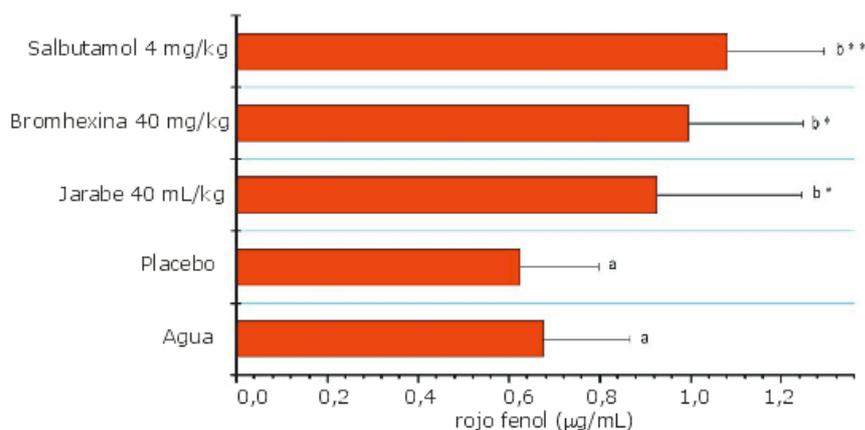


Fig. 2. Efecto de jarabe de *P. amboinicus*, bromhexina y salbutamol sobre la concentración de rojo fenol en la secreción traqueobronquial de ratón (grupos con al menos una letra en común no son estadísticamente diferentes, así como * y ** con respecto al grupo control para $p < 0,05$ y $p < 0,01$).

El jarabe de *P. amboinicus* fue capaz de ejercer un efecto significativo sobre la concentración de rojo fenol en las secreciones traqueobronquiales de ratón, reflejado por un aumento de estas. No se administró una dosis superior del jarabe, para corroborar si este efecto era dosis dependiente, por razones de volumen.

A los 30 min de su inyección, la secreción traqueobronquial de rojo fenol en el grupo tratado con carboximetilcelulosa se movió entre 0,32 y 0,57 µg/mL. En la [figura 3](#) se puede observar el efecto de las tabletas de *P. amboinicus* en un intervalo de dosis de 17-68 mg/kg, bromhexina y salbutamol sobre la concentración de rojo fenol en la secreción traqueobronquial de ratón.

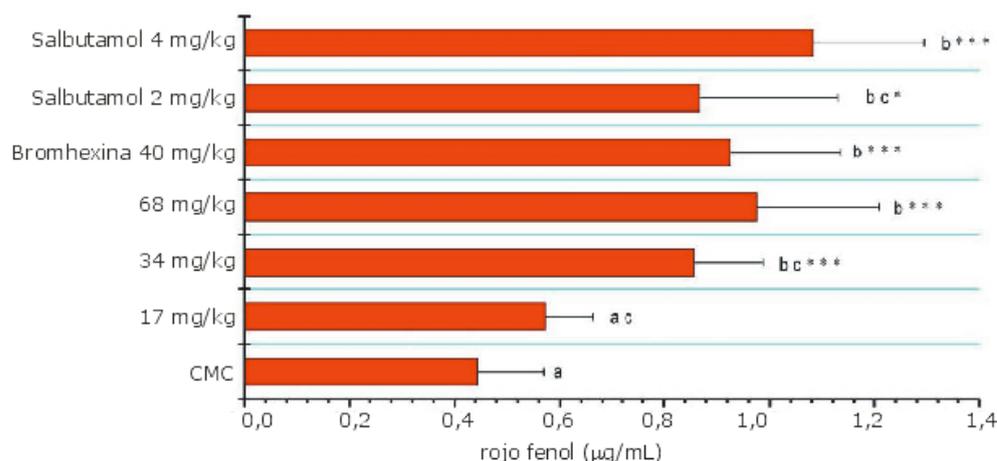


Fig. 3. Efecto de tabletas de *P. amboinicus*, bromhexina y salbutamol sobre la concentración de rojo fenol en la secreción traqueobronquial de ratón (grupos con al menos una letra en común no son estadísticamente diferentes $p < 0,05$; así como * y *** con respecto al grupo control para $p < 0,05$ y $p < 0,001$).

Las tabletas de *P. amboinicus* fueron capaces de ejercer un efecto significativo sobre la concentración de rojo fenol, en las secreciones traqueobronquiales de ratón, que reflejan un aumento de estas. Este efecto fue dependiente de la dosis, se alcanzó un incremento de la secreción de 119 % ($p < 0,001$) tras la administración de una dosis de 68 mg/kg de tabletas comparado con la secreción basal, efecto que estadísticamente fue similar al de la bromhexina y del salbutamol.

DISCUSIÓN

Dentro de los métodos *in vitro* para el estudio de la actividad mucolítica se encuentra el del rojo fenol. Basado en las propiedades de este colorante para ser eliminado en los fluidos del tracto respiratorio, este método resulta apropiado para medir el efecto de sustancias que alteran las propiedades físicas del mucus o su aclaramiento mucociliar.⁹

El balance agua-glicoproteína del mucus de las vías respiratorias es alterado por compuestos agonistas β adrenérgicos, al estimular la secreción de mucina^{10,11} y, por lo tanto, producen un incremento de la concentración de rojo fenol (marcador) en la secreción traqueobronquial de ratón, esto se corresponde con los resultados obtenidos en los grupos tratados con salbutamol 4 mg/kg. Además se conoce que la bromhexina es capaz de aumentar la cantidad de secreción traqueobronquial y también disminuir su viscosidad, lo que quedó evidenciado al ejercer un incremento en la concentración de rojo fenol en las secreciones traqueobronquiales del ratón.

Los resultados, superiores a 30 %, obtenidos en los grupos tratados con el jarabe de *P. amboinicus* y las tabletas, revelan que este es capaz de ejercer un efecto sobre el volumen o composición (o ambos) de la secreción traqueobronquial. Asimismo, estos resultados pudiesen estar dados por un efecto sobre el aclaramiento mucociliar.

La capacidad del jarabe y las tabletas de *P. amboinicus* de ejercer efecto expectorante pudiese justificar el efecto antitusivo demostrado con anterioridad (Núñez Y, Tillán J, Carrillo C, Menéndez R, Pavón V, León R. Evaluación de la actividad antitusiva del *Plectranthus amboinicus* [Lour] Spreng tabletas 100 mg.

Informe de Estudio, 2001). Los expectorantes al aumentar las secreciones traqueobronquiales tienden aliviar la tos, por causa de la presencia de una secreción espesa e irritante; además, el mucus secretado, demulcente natural, protege la mucosa inflamada y disminuye el reflejo tusígeno. De modo que los expectorantes se comportan como calmantes de la tos cuando esta es improductiva.²

Los resultados del presente trabajo permiten concluir que tanto el extracto acuoso como el hidroalcohólico presentan actividad expectorante; el jarabe a partir del extracto acuoso fue efectivo a dosis de 50 mL/kg, el jarabe a partir del extracto fluido fue efectivo a dosis de 50 y 37,5 mL/kg y las tabletas de 100 mg ejercieron efecto expectorante a las dosis de 34 y 68 mg/kg.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Flórez J. Fármacos antitusígenos, mucolíticos, surfactante pulmonar y estimulantes de la respiración. En Flórez J, Armijo JA, Mediavilla A, editores. Farmacología Humana. 3ra. ed. Barcelona: Masson, SA; 1998. p. 721-30.
2. Litter M. Farmacología Experimental y Clínica. 7ma. ed. Buenos Aires: El Ateneo; 1986. p. 845-59.
3. Roig JT. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. La Habana: Editorial Científico-Técnica; 1988. p. 597.
4. Núñez Y, Tillán J, Carrillo C, Menéndez R, Pavón V, León R. Efecto de *Plectrathus amboinicus* (Lour.) Spreng tabletas sobre la anafilaxia pasiva cutánea, transmisión histaminérgica y adrenérgica. Rev Cubana Plant Med [serie en Internet]. 2006 Dic [citado 2009 Abr 09]; 11(3-4): Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962006000300005&lng=es&nrm=iso
5. Coppi G, Gatti MT. A method for studying expectorant action in the mouse by measurement of the tracheobronchial phenol secretion. Farmaco. 1989; 44(5):541-5.
6. Sigarroa A. Biometría y Diseño Experimental. La Habana: Ed. Pueblo y Educación; 1985. p. 430.
7. CIOMS: Consejo de Organizaciones Internacionales de Ciencias Médicas. Principios Guías Internacionales para la Investigaciones Biomédicas que implique animales. Normas, documentos y ética médica. Ginebra; 1985. p 97-107.
8. Nardi D, Motta G, Tajana A, Catto A, Cazzulani P, Leonardi A. New 2,4-dibromo-6-(N-cyclohexyl-N-methyl)-aminomethylanilides of derivatives of cysteine and cystine with expectorant activity. Farmaco [Sci]. 1985; 40(2):108-19.
9. Engler H, Szelenyi I. Tracheal phenol red secretion, a new method for screening mucosecretolytic compounds. J Pharmacol Methods. 1984; 11(3):151-7.

10. Gallagher JT, Kent PW, Passatore M, Phipps RJ, Richardson PS. The composition of tracheal mucus and the nervous control of its secretion in the cat. Proc Soc Lond B. 1975;192:49-76.
11. Ueki J, German VF, Nadel JA. Micropipette measurement of airway submucosal gland secretion. Am Rev Respir Dis. 1980;121:351-7.

Recibido: 17 de diciembre de 2007.

Aprobado: 3 de mayo de 2009.

Lic. *Pedro Barzaga Fernández*. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). Ave 26 No. 1605 entre/ Puentes Grandes y Ave. Boyeros, Plaza, Ciudad de La Habana, Cuba. Correo electrónico: pedrobf@infomed.sld.cu