

## **Estudio de las Propiedades Antiinflamatorias de *Marrubium vulgare***

Boeris, M.A.<sup>2</sup>; Toso, R.E.<sup>1</sup>; Ochoa, G.J.<sup>2</sup>; Manso, D.A.<sup>2</sup>; Cuccolo, M.E.<sup>2</sup> y Skliar, M.I.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Cátedra de Farmacognosia, Depto. de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur, San Juan 670, (8000) Bahía Blanca.

<sup>2</sup>Cátedra de Fisiología Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa, calle 5 y 116, General Pico, (6360) La Pampa.

E-mail: lowpam@ciudad.com.ar

### **RESUMEN**

*Marrubium vulgare* (Malvarrubia) es una planta adventicia, ampliamente distribuida en Argentina. La medicina popular le atribuye propiedades diurética, antiinflamatoria, febrífuga y expectorante. En el presente trabajo se llevaron a cabo estudios en ratones, utilizando el test de la carragenina, con el fin de confirmar la acción antiinflamatoria. Extractos etanólico, hidroalcohólico, clorofórmico y acuoso provenientes de 1 g de partes aéreas desecadas de *Marrubium vulgare*, vehiculizados en una suspensión de carboximetilcelulosa y Tween 80, fueron respectivamente administrados per os, una hora antes de la aplicación de una solución de carragenina en la almohadilla plantar, a cuatro grupos de cinco animales cada uno. El grupo control recibió una dosis del excipiente y el grupo testigo Piroxicam per os una hora antes de la inyección de carragenina. La inflamación se evaluó midiendo el edema inflamatorio en los distintos grupos a las 3, 5 y 7 horas posteriores a la aplicación de carragenina. El extracto etanólico inhibió significativamente el edema inflamatorio en un 49% ( $P < 0,05$ ), respecto al grupo control, tres horas después de la administración de carragenina. Los extractos hidroalcohólico, clorofórmico y acuoso inhibieron el edema un 4%, 35% y 18% respecto al grupo control, sin presentar diferencias significativas ( $P < 0,05$ ). Un estudio comparativo, administrando distintas dosis de extracto etanólico provenientes de 0,5, 1 y 2 g de *Marrubium vulgare* desecada, evidenció que el extracto etanólico proveniente de 1 g de la planta posee un efecto antiinflamatorio significativo a las 3, 5 y 7 horas con respecto al control. Estos valores de inhibición del edema son similares a los obtenidos con una dosis de 30 mg/kg de Piroxicam.

**Palabras claves:** *Marrubium vulgare*, Labiada, efecto antiinflamatorio.

### **SUMMARY**

*Marrubium vulgare* (Malvarubia) is an adventitious plant broadly distributed in Argentina. Popular medicine attributes it diuretic, anti-inflammatory, febrifugal and expectorant properties. This work was carried out with mice using the test of the carragenin with the purpose of confirming the anti-inflammatory action. Ethanolic, hydroalcoholic, chloroformic and aqueous extracts from 1 g of dried up air parts of *Marrubium vulgare* in a carboxymethylcellulose and Tween 80 suspension, were respectively administered per os, one hour before the application of a carragenin solution in the plantar pad, to four groups of five animals each. The control group received a dose of the excipient and the witness group got one of Piroxicam per os, an hour before the carragenin injection. The inflammation was evaluated by measuring the inflammatory edema in the different groups at 3, 5 and 7 hours after to the carragenin application. The ethanolic extract inhibited the inflammatory edema in a 49%, respect to the control group, three hours after the carragenin administration. The hydroalcoholic, chloroformic and aqueous extracts inhibited the edema 4%, 35% and 18% respect the

control group. A comparative study administering different dose of ethanol extract from 0,5, 1 and 2 g of dried up *Marrubium vulgare*, evidenced that the ethanol extract from 1 g of the plant, possesses a significant anti-inflammatory effect 3, 5 and 7 hours after administration respect the control group. These values of the edema inhibition are similar to those obtained with a 30 mg/kg of Piroxicam dose.

**Key words:** *Marrubium vulgare*, Labiatae, anti-inflammatory effect.

## INTRODUCCIÓN

La Malvarrubia, *Marrubium vulgare* L., es una planta perenne, que pertenece a la familia de las Labiadas, de origen africano y europeo, adventicia en casi todo el mundo. Se la encuentra ampliamente distribuida en la Provincia de La Pampa, Argentina. Es una planta que se reconoce por el color grisáceo de sus hojas cubiertas por pelos que le dan esa tonalidad. Vulgarmente se la conoce también como Marrubio, Yerba del sapo o Toronjil de Cuyo.

Ratera y Ratera (1980) le atribuyen propiedades diurética y febrífuga. La infusión de las hojas se usa como depurativo o purificador de la sangre, así como estimulante general del organismo y tónico estomacal.

Esta planta, utilizada desde la antigüedad, fue descrita por Dioscórides, quien la recomendó para los asmáticos, como expectorante y antídoto de venenos de víbora. Fernández Chiti (1999) indica sus usos como febrífuga, como tónico amargo para estimular la digestión gástrica y para estimular la función hepática y del bazo. También detalla su aplicación para tratar afecciones nerviosas, como antiespasmódico, contra la obesidad, por su actividad diurética, vermífuga y desinflamante intestinal.

El efecto antiespasmódico de extractos hidroalcohólicos de *Marrubium vulgare* se demostró in vitro en preparaciones de músculo liso aislado de cobayos y ratas. Estos estudios mostraron una acción inhibitoria sobre algunos neurotransmisores, entre ellos prostaglandinas, histamina y bradiquinina (Schlemper et al., 1996)

Entre los principios activos aislados de *Marrubium vulgare* se encuentra la marrubina, una lactona diterpénica que le da sabor amargo. Además se aisló marrubiol, marruberol, esclareol, peregrinol y vulgarol como alcoholes diterpénicos y varios flavonoides como vitexina, luteololona, quercetina y apigenina. También se detectaron trazas de aceites esenciales como bisabolol, canfeno, p-cimeno, limoneno,  $\beta$ -pineno, sabineno y otros compuestos como ácidos fenilcarboxílicos, taninos, colina, saponósidos,  $\beta$ -sitosterol y alcaloides (Alonso, 1998).

En investigaciones bioquímicas llevadas a cabo con Malvarrubia, se determinó la presencia de flavonoides en vegetales provenientes del desierto egipcio (Nawwar et al., 1989). Estudios in vitro llevados a cabo por Wagner (1989) relacionando la estructura química con la actividad farmacológica demostraron que algunos flavonoides inhiben las enzimas ciclooxigenasas y 5-lipoxigenasas que intervienen en los procesos inflamatorios.

Utilizando el test de la carragenina, se demostró que el aceite esencial extraído del vegetal posee propiedades antiinflamatorias (Wren, 1994).

En el presente trabajo, con el propósito de confirmar la acción antiinflamatoria atribuida a *Marrubium vulgare* en vegetales recolectados en la provincia de La Pampa, se investigó el efecto de distintos extractos administrados por vía oral provenientes de la planta utilizando el test de la carragenina en ratones. Posteriormente, con el fin de determinar la potencia como fitofármaco del vegetal, se comparó el efecto del extracto que exhibió mayor actividad antiinflamatoria con el que produce el Piroxicam, reconocido agente antiinflamatorio.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para determinar el efecto antiinflamatorio de *Marrubium vulgare* se utilizó el test de la carragenina (Winter et al., 1962) en ratones administrando por vía oral los extractos ensayados en distintas concentraciones. La respuesta inflamatoria en los animales se evaluó midiendo con un calibre el grosor de la almohadilla plantar en milímetros.

Como droga testigo se empleó el Piroxicam, en dosis de 30 mg/kg de peso vivo, que también se administró vía oral una hora antes de la inyección de carragenina, al igual que los extractos vegetales y sólo el excipiente en el caso del control.

La inflamación se cuantificó midiendo el grosor de la almohadilla plantar, utilizando un calibre inmediatamente antes de la inyección de carragenina y a las 3, 5 y 7 h posteriores. La diferencia entre el valor inicial y las distintas mediciones se considera como el grado de inflamación alcanzada ( $\Delta$ ). El efecto antiinflamatorio de los extractos se expresó como porcentaje de la reducción del edema, calculado por medio de la fórmula  $\{(\Delta C - \Delta T) / \Delta C\} \times 100$ , siendo  $\Delta C$  la media del grupo control y  $\Delta T$  la media del grupo tratado.

Se utilizó Análisis de Varianza (ANOVA) de una sola vía y la confrontación de las diferencias de la inflamación de la almohadilla plantar entre los grupos tratado y testigo a las 3, 5 y 7 horas después del tratamiento con respecto al control se analizaron por medio del Test “t” de Student (Snedecor y Cochran, 1967). Diferencias con un  $P < 0,05$  fueron consideradas significativas.

1.0. Evaluación del efecto antiinflamatorio de extractos acuoso, etanólico, hidroalcohólico y clorofórmico de *Marrubium vulgare*.

### 1.1. Material vegetal

El material vegetal se recolectó en los Departamentos Capital y Maracó, de la Provincia de La Pampa, Argentina. Las partes aéreas de la planta se secaron al abrigo de la luz a temperatura ambiente.

### 1.2. Animales y vías de administración

En los ensayos se utilizaron 6 grupos de 5 ratones machos y hembras *Mus musculus* cepa CF1 de 25 – 30 g de peso. Los animales fueron privados de alimentos 24 h antes del ensayo y tuvieron acceso libre al agua. La administración per os, utilizando una sonda gástrica, de excipiente, extractos y droga testigo se realizó una hora antes de la aplicación de la carragenina.

### 1.3. Obtención de los extractos

Excipiente: para diluir los extractos se utilizó una solución de carboximetilcelulosa (CMC) al 0,1 % y Tween 80 (T80) al 0,05 % (8:2, v/v).

Extractos etanólico, hidroalcohólico, clorofórmico y acuoso: se colocaron 5 g de partes aéreas desecadas de *Marrubium vulgare* en 200 ml de etanol, etanol:agua (1:1, v/v), cloroformo y agua respectivamente durante 24 horas (3x). Los extractos se filtraron y se llevaron a sequedad a presión reducida. El residuo fue vehiculizado en 2,5 ml de excipiente obteniéndose 5 dosis de 1 g de extracto seco de la planta en un volumen de 0,5 ml cada una.

2.0. Comparación de la respuesta antiinflamatoria de distintas concentraciones de extracto etanólico de *Marrubium vulgare* respecto al Piroxicam.

Debido a que el extracto etanólico presentó el mayor nivel de inhibición del edema, se utilizó este extracto para realizar el bioensayo.

2.1. Material vegetal: se repitió el procedimiento descrito en 1.1.

2.2. Animales y vías de administración: los ratones fueron preparados y administrados con los distintos extractos como se indicó en el punto 1.2.

2.3. Obtención de los extractos.

Excipiente: para diluir los extractos se utilizó una solución de carboximetilcelulosa (CMC) al 0,1 % y Tween 80 (T80) al 0,05 % (8:2, v/v).

Extractos etanólicos (0,5, 1 y 2 g de *Marrubium vulgare*): se realizó el mismo esquema de extracción detallado en el punto 1.3. utilizando etanol como solvente y 2,5, 5 y 10 g de planta, al extracto seco se le agregó el excipiente hasta un volumen de 2,5 ml obteniéndose 5 dosis de 0,5, 1 y 2 g de extracto seco de la planta en un volumen de 0,5 ml por animal respectivamente.

El extracto etanólico fue evaluado en tres concentraciones de 0,5, 1 y 2 g de planta seca por dosis.

## RESULTADOS

El extracto etanólico mostró acción antiinflamatoria a las 3 horas de iniciado el ensayo ( $P < 0,05$ ) (Tabla 1). Los extractos hidroalcohólico, clorofórmico y acuoso no evidenciaron efecto antiinflamatorio en forma significativa ( $P < 0,05$ ).

**Tabla 1: Efecto de distintos extractos de *Marrubium vulgare* sobre el edema plantar inducido con carragenina en ratones.**

	3 h ( $\pm$ D.E.)	% <sup>a</sup>	5 h ( $\pm$ D.E.)	% <sup>a</sup>	7 h ( $\pm$ D.E.)	% <sup>a</sup>
Control	1,14 $\pm$ 0,44		1,14 $\pm$ 0,77		0,98 $\pm$ 0,80	
Piroxicam	0,52 $\pm$ 0,43*	54	0,76 $\pm$ 0,37	33	0,70 $\pm$ 0,57	29
Acuoso	0,94 $\pm$ 0,21	18	1,12 $\pm$ 0,19	2	1,40 $\pm$ 0,58	-
Etanólico	0,58 $\pm$ 0,22*	49	0,88 $\pm$ 0,13	23	1,20 $\pm$ 0,39	-
Hidroalcohólico	1,10 $\pm$ 0,42	4	1,20 $\pm$ 0,21	-	1,34 $\pm$ 0,52	-
Clorofórmico	0,74 $\pm$ 0,26	35	1,30 $\pm$ 0,62	-	1,46 $\pm$ 0,73	-

Los animales de cada grupo recibieron 1 h antes del ensayo una dosis de 0,5 ml per os de excipiente, extractos acuoso, etanólico, hidroalcohólico, clorofórmico obtenido a partir de 1 g de planta y 30 mg/Kg de Piroxicam respectivamente.

Las mediciones se realizaron con un calibre en mm.

<sup>a</sup>Porcentaje de inhibición del edema con respecto al grupo control calculado según la fórmula  $\{(\Delta C - \Delta T) / \Delta C\} \times 100$  como se indicó en Materiales y Métodos.

Los datos representan la media  $\pm$  D.E. (n=5), comparados estadísticamente por ANOVA de una vía ( $P < 0,05$ ).

\*Test “t” de Student  $P < 0,05$ , n=5. Comparación de los grupos tratados con extracto etanólico y piroxicam respecto al control.

No se encontraron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre el grupo tratado con extracto etanólico y el grupo piroxicam.

**Tabla 2: Efecto de distintas concentraciones del extracto etanólico sobre el edema plantar inducido con carragenina en ratones.**

Grupos	Dosis	3 h (±D.E.)	% <sup>a</sup>	5 h (±D.E.)	% <sup>a</sup>	7 h (±D.E.)	% <sup>a</sup>
Control		1,32±0,28		1,34±0,31		1,54±0,30	
Piroxicam	30mg/Kg	0,93±0,18*	30	1,00±0,24	25	1,03±0,32*	33
Ex. Etanólico	0,5 g	1,03±0,40	22	1,27±0,33	3	1,22±0,23	21
Ex. Etanólico	1,0 g	0,92±0,34*	30	0,92±0,28*	31	0,85±0,41*	45
Ex. Etanólico	2,0 g	1,00±0,29	24	1,57±0,37	-	1,52±0,25	1

Los animales de cada grupo recibieron 1 h antes del ensayo una dosis per os de excipiente, extractos etanólicos obtenidos a partir de 0,5; 1 y 2 g de materia vegetal y 30 mg/Kg de Piroxicam respectivamente.

Las mediciones se realizaron con un calibre en mm.

<sup>a</sup>Porcentaje de inhibición del edema con respecto al grupo control calculado según la fórmula  $\{(\Delta C - \Delta T) / \Delta C\} \times 100$  como se indicó en Materiales y Métodos.

Los datos representan la media ± D.E. (n=5), comparados estadísticamente por ANOVA de una vía (P<0,05).

\*Test “t” de Student P<0,05, n=5. Comparación de los grupos tratados con distintas dosis de extracto etanólico y piroxicam respecto al control.

Un gramo de extracto etanólico produjo una respuesta significativa en todas las horas testeadas (P<0,05), mientras que los extractos etanólicos, administrados en dosis de 0,5 y 2 g, no inhibieron el edema inflamatorio (P<0,05) (Tabla 2).

Se observó la presencia de diarrea en los animales administrados con 2 g de extracto etanólico de *Marrubium vulgare*.

## DISCUSIÓN

Utilizando el test de la carragenina en ratones, se demostró la acción antiinflamatoria sobre procesos agudos de *Marrubium vulgare* que crece en la Provincia de La Pampa, Argentina. Estos resultados concuerdan con datos etnobotánicos publicados por Wren (1994) quién encontró esta acción en el aceite esencial obtenido de la planta.

En la Tabla 1 se muestra que el efecto antiinflamatorio sólo es significativo cuando se utiliza etanol como solvente de extracción. La utilización de distintos solventes, tuvo por finalidad obtener información que conduzca a la elucidación de posibles compuestos activos con propiedades antiinflamatorias. La presencia de algunos flavonoides con actividad antiinflamatoria reconocida (Nawwar et al., 1989; Wagner, 1989; Alonso, 1998) y su afinidad por el alcohol, permiten suponer que la acción farmacológica encontrada al utilizar extracto etanólico en el presente trabajo estaría relacionada con la presencia de estos compuestos.

La Tabla 2 muestra que el extracto etanólico de *Marrubium vulgare* posee una acción antiinflamatoria dependiente de la dosis cuando se utilizó 0,5 y 1 g de materia seca por animal. Dosis de 2 g de extracto seco por animal sólo produjeron una respuesta inicial a las 3 h posteriores a la administración de la carragenina. La diarrea observada

en estos animales podría estar relacionada con una disminución de la absorción del extracto que explicaría la ausencia de efecto antiinflamatorio. Como resultado de este estudio comparativo, se determinó que la administración de una dosis de 1 g de extracto seco por animal produjo un efecto antiinflamatorio similar al obtenido con una dosis de 30 mg/kg de Piroxicam.

Se concluye que los resultados obtenidos con extracto etanólico de *Marrubium vulgare* que se desarrolla en la Provincia de La Pampa, Argentina sobre procesos inflamatorios agudos provocados con carragenina, poseen acción antiinflamatoria. Los resultados obtenidos en el presente trabajo ratifican la utilización folklórica de la planta y permiten planificar futuros estudios que profundicen los conocimientos fitoquímicos y tóxico – farmacológicos.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alonso, J.** 1998. Tratado de Fitomedicina, Bases clínicas y farmacológicas. ISIS Ediciones SRL, Buenos Aires, Argentina, pp. 704-707.
- Fernández Chiti, J.** 1999. Hierbas y Plantas Curativas, Plantas Shamánicas. Ediciones Condorhuasi, Buenos Aires, Argentina, pp. 213-214.
- Nawwar, M., El-Mousallamy, A., Barakat, H., Buddrus, J., Linscheid, M.** 1989. Flavonoid lactates from leaves of *Marrubium vulgare*. Phytochemistry, 28: 3201-3206.
- Ratera, E. y Ratera, M.** 1980. Plantas de la flora argentina empleadas en medicina popular. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina, pp. 77-78.
- Schlemper, V., Ribas, A., Nicolau, M., Cechinel-Filho, V.** 1996. Antispasmodic effects of hydroalcoholic extract of *Marrubium vulgare* on isolate tissues. Phytomedicine, 3: 211-216.
- Snedecor, G. W. y Cochran, W. G.** 1967. Statistical Methods, Iowa State University Press, Ames, Estados Unidos de Norteamérica, pp. 120-134.
- Souza, M. de, Jesús, R. de, Cechinel Filho, V., Schlemper, V., De Souza, M., De Jesús, R.** 1998. Analgesic profile of hydroalcoholic extract obtained from *Marrubium vulgare*. Phytomedicine, 5: 103-107.
- Wagner, H.** 1989. Search for new plant constituents with potential antiphlogistic and antiallergic activity. Planta – Medica, 55: 235-241.
- Wren, R.** 1994. Nueva enciclopedia de medicina herbolaria y preparados botánicos Ed. Grijalbo. México.
- Winter, C.A., Risley, E.A., Nuss, G.** 1962. Carragenan-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. Proceedings of Society of Experimental Biology and Medicine, 111: 544-547.