

Evaluación del contenido de alcaloides, la toxicidad aguda y antitusiva de las brácteas de dos variedades de *Bougainvillea glabra* Choisy

Evaluation of alkaloid contents, acute toxicity and antitussive activity of the bracts of two varieties of *Bougainvillea glabra* Choisy

Carmita Gladys Jaramillo-Jaramillo^{1*}, Katherine Amarilis Zambrano-Gonzaga¹, Juan Carlos Armijos-Aguilar¹, Sylvana Alexandra Cuenca-Buele^{1,2}, Manuel Tocto-León¹, Luisa Rojas de Astudillo³

¹Universidad Técnica de Machala, Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud. Machala, Ecuador.

²Sociedad de Lucha contra el Cáncer del Ecuador (SOLCA), núcleo Machala. Machala, Ecuador.

³Universidad de Oriente, Departamento de Química. Venezuela.

*Autor para correspondencia: cjaramillo@utmachala.edu.ec

RESUMEN

La planta *Bougainvillea glabra* Choisy, utilizada para el tratamiento de varias enfermedades, se presenta en variedades debido al color de sus brácteas, las cuales muestran composiciones químicas diferentes, lo que da la posibilidad de presentar diversas actividades terapéuticas y también potencialmente diferentes efectos tóxicos. De allí la importancia de evaluar, tanto la actividad farmacológica como la toxicidad de las brácteas con diferentes colores de *B. glabra*. En esta investigación se evaluó la actividad antitusiva y la toxicidad aguda de las brácteas de los colores naranjas y moradas de *B. glabra*, respectivamente. Para los ensayos preclínicos de toxicidad aguda se aplicó la dosis de 2.000 mg.kg⁻¹ del extracto de las brácteas de los colores morado y naranja de *B. glabra*, respectivamente, en ratones CD1, la cual resultó no tóxica al ser ingerida por vía oral. Para la actividad antitusiva se usaron ratones CD1 y fueron divididos en 6 grupos, un grupo control y cinco grupos a los que se les administraron las dosis de 250 mg.kg⁻¹ (T1 y T2) y 500 mg.kg⁻¹ (T3 y T4) del extracto seco de las brácteas moradas, naranjas y codeína (30 mg.kg⁻¹) (T5) como control positivo, respectivamente. La actividad antitusiva se produjo en todos los tratamientos (T), pero el T2 de 250 mg.kg⁻¹ de las brácteas de color naranja proporcionó significativamente ($P < 0,05$) la mayor actividad antitusiva, en comparación con el T4 de 500 mg.kg⁻¹ del mismo color y los otros tratamientos (T1, T3 y T5). Las brácteas naranjas tuvieron mayores concentraciones (0,24 ± 0,02) mg.g⁻¹ de alcaloides que las moradas (0,16 ± 0,02) mg.g⁻¹. Al parecer, las brácteas de *B. glabra* del color naranja disminuyen la efectividad de la actividad antitusiva cuando aumenta la concentración de alcaloides en el extracto seco. Este estudio proporciona evidencia de que las brácteas moradas y naranja de *B. glabra* tienen actividad antitusiva, a las dosis empleadas y sin efectos de toxicidad aguda.

Palabras clave: *Bougainvillea glabra*; brácteas; toxicidad aguda oral; ratones CD1, alcaloides

ABSTRACT

The *Bougainvillea glabra* Choisy plant, used for the treatment of various diseases, occurs in varieties due to the color of its bracts, which show different chemical compositions, which gives the possibility of presenting various therapeutic activities and potentially different toxic effects. Hence the importance of evaluating both the pharmacological activity and the toxicity of the bracts with different colors of *B. glabra*. In this investigation, the antitussive activity and acute toxicity of orange and purple bracts of *B. glabra*, respectively, were evaluated. For preclinical acute toxicity tests, a dose of 2,000 mg.kg⁻¹ of the extract of the purple and orange bracts of *B. glabra*, respectively, was applied to CD1 mice, which was non-toxic when ingested orally. For the antitussive activity, CD1 mice were used and were divided into 6 groups, a control group and five groups that were administered the doses of 250 mg.kg⁻¹ (T1 and T2) and 500 mg.kg⁻¹ (T3 y T4) of the dry extract of the purple bracts, oranges, and codeine (30 mg.kg⁻¹) (T5) as positive control, respectively. Antitussive activity occurred in all treatments, but the 250 mg.kg⁻¹ treatment of the orange bracts (T2) provided significantly ($P < 0.05$) the highest antitussive activity, compared to the 500 mg.kg⁻¹ treatment of the same color (T4) and the other treatments (T1, T3 and T5). The orange bracts had higher concentrations (0.24 ± 0.02) mg.g⁻¹ of alkaloids than the purple ones (0.16 ± 0.02) mg.g⁻¹. Apparently, the orange bracts of *B. glabra* decrease the effectiveness of the antitussive activity when the concentration of the extract increases due to the high content of alkaloids. This study provides evidence that the purple and orange bracts of *B. glabra* have antitussive activity, at the doses used and without acute toxicity effects.

Key word: *Bougainvillea glabra*; bracts; acute toxicity; CD1 mice, alkaloids

INTRODUCCIÓN

La tos es el síntoma más común de las multitudes de enfermedades respiratorias [1], por lo que disminuye la calidad de vida y que además tiene un gran impacto socioeconómico al aumentar las visitas al médico y los días de baja por enfermedad [2].

Diferentes tipos de fármacos se han utilizado para el tratamiento sintomático de la tos, incluyendo antihistaminicos, descongestionantes, expectorantes, mucolíticos y broncodilatadores, los cuales se anuncian ampliamente y se venden de forma ubicua en farmacias y tiendas de todo el mundo. Sin embargo, la evidencia muestra una eficacia limitada [3]. En los resultados de una encuesta realizada por la Fundación Europea del Pulmón, la mayoría de los individuos con tos crónica, aquella persistente por más de ocho semanas, señala que el medicamento prescrito tenía una eficacia limitada o nula [4]. Cuando la tos se torna grave, los opioides, entre ellos la codeína, la folcodeína, la noscapina y el dextrometorfano, son efectivos; pero tienen efectos secundarios [5].

Los medicamentos de origen natural constituyen una alternativa, por lo que la Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce el uso de la medicina tradicional y complementaria, y dado que su demanda va en aumento, se plantea como objetivo su empleo seguro y eficaz, mediante la reglamentación de sus productos y de las buenas prácticas profesionales [6].

También la OMS plantea que la Medicina Tradicional de Calidad (MTC), de seguridad y eficacia comprobadas, contribuye a asegurar el acceso de todas las personas a la atención de salud. El uso de remedios naturales para el tratamiento de trastornos respiratorios también es una práctica común en muchas partes del mundo [7], debido a las propiedades antiinflamatorias, antibióticas, antivirales, demulcentes, expectorantes y mucolíticas, relacionadas con sus principios activos [8].

Dentro de las plantas medicinales usadas para el tratamiento de afecciones respiratorias, como la gripe, bronquitis, tos, tos ferina y asma se encuentra la planta *Bougainvillea glabra* Choisy [9]. *B. glabra* Choisy, también llamada Flor de Papel, debido a que tiene brácteas de colores vistosos que van de blanco a púrpura, de amarillo a naranja y varios tonos rojos y magenta o púrpura, es la planta más común del género *Bougainvillea* perteneciente a la familia *Nyctinaginaceae*, que se cultiva principalmente como planta ornamental. Es autóctona de América del Sur, Perú, el sur de Argentina y Brasil y prevalece como planta ornamental en las regiones de clima más cálido de Asia, las islas del Pacífico, el sudeste asiático, la región mediterránea, Australia y el Caribe [10].

Es importante resaltar que, aunque las plantas medicinales generalmente se consideran seguras y beneficiosas, no están completamente libres de efectos secundarios o toxicidad [11]. Esta toxicidad varía con la composición química de la planta en cuestión y puede surgir de la exposición aguda o crónica, incluso con extractos de baja toxicidad [12]. Por tal motivo, en la actualidad se desarrollan investigaciones para establecer no sólo la actividad farmacológica de las especies vegetales sino también su toxicidad. Por lo tanto, las pruebas de toxicidad de extractos de plantas/fitoconstituyentes juegan un papel crucial en la mejora de nuevos medicamentos [13].

En relación con *B. glabra*, se han realizado estudios de toxicidad aguda y subcrónica, en la planta completa, hojas y brácteas [9, 13]; sin embargo, existen muy pocos estudios para evaluar si hay algún efecto tóxico tomando en consideración las variedades de colores de las

brácteas de *B. glabra*, dado que esta variación del color en las brácteas se debe a la diversidad y proporciones de betacianinas y betaxantinas en las brácteas [14, 15]. De allí que en esta investigación se evaluó la actividad antitusiva y la toxicidad preclínica de las brácteas de los colores naranja y morada de *B. glabra* en ratones CD1[®], una cepa exogámica de ratones albinos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las brácteas moradas y naranjas fueron cosechadas en dos sitios Latitud 3°15' 9.187" S; Longitud 79°56' 45.063" O y Latitud 3°14' 50.726" S; Longitud 79°57' 40.755" O, con medias de temperaturas y humedad relativa de (25±2)°C y (80±5) %, respectivamente, en la ciudad de Machala, provincia del Oro, Ecuador.

Tratamiento de la muestra

Las brácteas fueron seleccionadas y clasificadas de acuerdo con las Directrices de la OMS sobre buenas prácticas agrícolas y de recolección (BPAR) de plantas medicinales [16]. Luego, las brácteas fueron secadas en una estufa (Memmert, UF 55, EUA), a 40°C por 48 h, y molidas usando un molino eléctrico (Black & Decker, CBG100S, EUA) hasta alcanzar un tamaño de partículas menor de 1 mm de diámetro, para mejorar la cinética de extracción y aumentar la superficie de contacto de la muestra con el disolvente [17].

Control de calidad

A las muestras secas y molidas de las brácteas de *B. glabra* naranjas y moradas, respectivamente, se les evaluaron los parámetros de humedad, cenizas totales, cenizas insolubles en HCl (2 mol·L⁻¹), siguiendo la metodología de la OMS [18].

Preparación de extractos

Se empleó el método de maceración a temperatura ambiente, para ello se pesaron 10 g de las muestras secas y molidas de las brácteas de *B. glabra* naranjas y moradas, respectivamente, y se mezclaron con 100 mL de un solvente hidroalcohólico (agua/etanol 98°, 30:70) en un Erlenmeyer de 250 mL y se dejaron en reposo por 24 h. Luego, para obtener un mayor rendimiento, los extractos fueron sometidos a una extracción asistida por ultrasonido [19], utilizando un baño ultrasónico de 5,7 L (Fisher Scientific CPXH Series, Modelo 3800, Fisher Scientific, EUA) durante 15 min. Posteriormente, los extractos se filtraron y se concentraron hasta sequedad en un rotoevaporador (Laborota 4001 Efficient, Heidolph, España) acoplado a un criostato (Lauda/Alpha RA-8, Alemania) y a una bomba de vacío (VACUUBRAND PC600, Alemania). Finalmente, los extractos secos se almacenaron en cajas de Petri (PYREX, 110X20, EUA), a 4°C en una nevera (Electrolux, DM84X, EUA) y protegidos de la luz, hasta su uso posterior.

Cuantificación de alcaloides

Diez g de material vegetal en polvo de las brácteas naranjas y moradas de *B. glabra*, respectivamente, se extrajeron usando un extractor Soxhlet (BTI-41, Bio-technics, India) con 50 mL de ácido acético al 2 % en metanol, por 2 h. Luego el extracto fue diluido hasta 100 mL con 2 % de ácido acético en metanol. A 5 mL del extracto preparado de cada bráctea, ajustados a pH (HACH, IP67, EUA) de 2,0-2,5, se les añadieron 2 mL de solución de Dragendorff, el precipitado formado fue centrifugado a 4.528 G durante 15 min (Remi R-24 centrífuga,

India) y luego se agregó 1 mL de solución de Dragendorff y se volvió a centrifugar para posteriormente desechar el sobrenadante.

Se lavó nuevamente el precipitado, con alcohol, luego se volvió a centrifugar y fue descartado el sobrenadante. Al precipitado obtenido se le agregaron 2 mL de sulfuro de amonio para obtener un precipitado negro marrón, al cual se disolvió con 2 mL de ácido nítrico concentrado, la solución fue agregada a un matraz volumétrico de 10 mL y enrasado con agua desionizada. La curva de calibración se obtuvo a partir de una solución estándar de nitrato de bismuto pentahidratado de $0,1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Se realizaron diluciones en serie de 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8 y 9 mL de solución estándar de bismuto en matraces volumétricos de 10 mL y enrasados con agua desionizada. A 1 mL de cada solución (muestras y patrones) se le añadieron 5 mL de solución de tiourea, formando una solución con coloración amarilla, la cual posteriormente fue leída la absorbancia en un espectrofotómetro (Evolution 201, Thermo Scientific, EUA) a 435 nm, se midieron blancos de reactivos [20].

Estudio de toxicidad aguda oral

Los animales empleados en el ensayo fueron ratones (*Mus musculus*) CD1[®], con masas entre 20 a 30 g, la reproducción, crianza y cuidados se realizó en el Bioterio- Biomódulo- Bioterio que cuenta con la acreditación del SAE (Servicio de Acreditación Ecuatoriano) y de la Entidad Nacional de Acreditación en España (ENAC), siguiendo las directrices de la *guía para el cuidado y uso de los animales de laboratorio* de la National Research Council [21]. La temperatura ambiental fue controlada a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, con ciclo de luz-oscuridad de 12 h, la humedad relativa de 30 %. La presión atmosférica y ventilación fueron adecuadas de acuerdo con las necesidades de la especie.

La evaluación de la toxicidad aguda oral se empleó el método de dosis límite siguiendo los lineamientos de la guía Internacional de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD) 425 [22]. Una suspensión del extracto seco ($25 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) fue preparada con una solución de tween 80, etanol (98°) y agua (5:5:90), siendo administrada por vía oral con la ayuda de una cánula esofágica de acero inoxidable no flexible (Cadence Science, 7912, EUA). El ensayo fue realizado con 18 ratones (machos y hembras). Para ello, se trabajó con cuatro grupos: los grupos controles de machos (A) y de hembras (B), a los cuales se les suministró suero fisiológico. Los grupos de ensayos de machos (C y D) y hembras (E y F) que se les administraron las suspensiones del extracto seco de las brácteas de *B. glabra* de las variedades morada y naranja, respectivamente, a dosis de $2.000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de peso del ratón.

Control de signos clínicos

Se llevó un control individual a los ratones. Todos los signos clínicos se registraron antes y después de la dosificación, al menos dos veces al día, por 14 días, con especial atención los primeros 30 min, 2 y 4 h, usando el método de observación sistemático denominado la prueba de Irwin [23], la cual permite evaluar el estado conductual, neurológico y autonómico de los ratones. Transcurrido los 14 días de observación, los animales fueron sacrificados por dislocación cervical, se diseccionaron y se extrajeron los órganos para una evaluación macroscópica y anatomopatológica de pulmones, bronquios, corazón, esófago, estómago, hígado, bazo. La observación histopatológica se realizó en un microscopio (Nikon eclipse E200, Japón) las muestras fueron teñidas con hematoxilina-eosina (H-E).

Evaluación de actividad antitusiva

Los ratones fueron divididos en seis grupos: Grupo I, animales control; Grupo II y III, animales con inducción de tos y tratamiento (administración oral) de la suspensión del extracto seco de las brácteas *B. glabra* color morado y naranja a las dosis de $250 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de masa de ratón (T1 y T2), respectivamente; Grupo VI y V, animales con inducción de la tos y tratamiento (administración oral) de la suspensión del extracto seco de las brácteas *B. glabra* color morada y naranja a las dosis de $500 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de masa de ratón (T3 y T4), respectivamente; Grupo V, animales con inducción de la tos y tratamiento (T5) (administración oral) con codeína $30 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de masa del ratón.

Luego, a cada ratón se le colocó en una cámara de vidrio y se expuso a $0,3 \text{ mL}$ de NH_4OH al 25 % producido por un nebulizador, durante 45 s. El animal fue monitoreado durante la exposición a la solución de NH_4OH . La frecuencia de tos y el período de latencia de la tos se registraron durante 6 min [24].

Análisis estadístico

El análisis de la varianza de una vía (ANOVA), seguido por la prueba de Dunnett, se usaron para evaluar la variación de la masa corporal en el estudio de la toxicidad aguda oral. Para el análisis de datos de la evaluación de actividad antitusiva también se usó ANOVA, aplicando la prueba de múltiples rangos por el método LSD FISHER para establecer diferencias significativas entre los grupos investigados, $P < 0,05$ fue considerado diferencia significativa. Se empleó el software STATGRAPHICS CENTURION XIX.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Control de calidad

Los resultados del análisis del control de calidad realizado a la droga seca para las brácteas de *B. glabra* variedad morada (BM) y las de variedad naranja (BN), expresados en porcentajes, fueron: a) humedad de $9,19/0,04$ para BM y $8,32/0,07$ para BN, cenizas totales de $6,50/0,17$ (BM) y $7,32/0,07$ (BN), y de cenizas insolubles en HCl ($2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) de $0,53/0,098$ (BBGCM) y $0,94/0,03$ (BN). En estos resultados, los porcentajes de humedad fueron menor a 12 % y los de cenizas insolubles en HCl ($2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) fueron menor a 2 %, se encuentran dentro de los valores de referencia normados por la OMS [16]; sin embargo, los valores de las cenizas totales en las muestras secas de las brácteas de las dos variedades de *B. glabra* superan el valor normado por la OMS (5 %) que puede ser atribuido a las sustancias inorgánicas que la planta posee, entre ellas sales de fosfatos, carbonatos y silicatos de sodio, potasio, magnesio y calcio [25].

Estudio de toxicidad aguda oral

En relación con la variación de la masa corporal, tras la administración de $2.000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de la suspensión del extracto seco de las brácteas morada y naranja de *B. glabra*, respectivamente, no hubo diferencias significativas ($P < 0,05$) entre las masas iniciales y finales de los grupos tratados y de los animales de un mismo sexo.

Los resultados del control de los signos clínicos de forma individual, aplicando lo referido por la guía Internacional de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD) [22] y la Tabla de resultados de la prueba de Irwin [23] mostraron que no hubo muertes ni signos clínicos alterados, durante los 14 días que duró el ensayo. Estos resultados indican que la suspensión de extracto

seco, a 2.000 mg·kg⁻¹ de masa de ratón, de las brácteas morada y naranja de *B. glabra*, respectivamente, no produce toxicidad aguda.

Con la finalidad de recabar más información y asegurar la veracidad de los resultados, se realizó un estudio anatomopatológico, donde no se apreció lesión celular macroscópica ni microscópicamente en los órganos evaluados, tal como se observa en la FIG.1. Los cortes histológicos en la microfotografía (A) corresponden al pulmón en medio del cual se observa un bronquiolo revestido por epitelio cilíndrico pseudoestratificado que asienta sobre tejido conectivo laxo vascularizado. En la imagen (B), con mayor aumento, se observa el pulmón, conformado por alveolos revestidos por epitelio plano simple bien diferenciado separados de los vasos capilares por una delgada membrana basal, dentro de la normalidad. En el corazón (C): Los cortes histológicos a nivel del miocardio conservan su arquitectura, se observa fibra muscular estriada cardiaca en un corte longitudinal, las células muestran núcleos centrales, citoplasmas con estrías transversales, unidas mediante los discos intercalados que le dan apariencia ramificada, focalmente se observa congestión leve, como consecuencia a la técnica utilizada para su muerte. En el esófago (D): La pared del esófago histológicamente conformada por una mucosa tapizada por epitelio escamoso estratificado con presencia de láminas de queratina, asienta sobre tejido conectivo vascularizado, la muscular y serosa dentro de parámetros histológicos de la normalidad. En el estómago (E): Los cortes histológicos corresponden a pared de estómago, consta de 4 capas mucosa, submucosa, muscular y serosa. La mucosa está conformada por glándulas revestidas por epitelio cilíndrico simple que en la parte más profunda desembocan en las foveolas gástricas revestidas por epitelio mucosecretor. La submucosa, muscular y serosa conservan sus características histológicas. En el hígado (F): Los cortes histológicos muestran arquitectura conservada, están conformados por lobulillos de forma hexagonal, en el centro del hexágono se encuentra una luz vascular que corresponde a una vena centrolobulillar. En la periferia, a nivel de los ángulos del hexágono se observa los espacios triangulares o espacios porta, constituidos por estructuras vasculares y canaliculares biliares rodeados por estroma de tejido conectivo vascularizado. El espacio entre la vena centrolobulillar y los espacios porta aparecen ocupados por cordones o trabéculas de células cúbicas de núcleos centrales y citoplasmas eosinófilos, rodeadas por sinusoides vasculares dispuestos radialmente. En el bazo (G): Los cortes histológicos muestran arquitectura conservada, se identifica la pulpa blanca y la pulpa roja. La pulpa blanca conformada por tejido linfoide entre ellos linfocitos y macrófagos alrededor de una arteria esplénica. La pulpa roja conformada por senos venosos llenos de eritrocitos y algunos linfocitos. Hacia la periferia se observa una cápsula de tejido conectivo denso vascularizado. El estudio patológico, macro y microscópico fue normal, dado que las características de los tejidos evaluados fueron similares en el grupo control y en el grupo tratado.

Sobre la base de los resultados antes mencionados, se sugiere que los extractos hidroalcohólicos (etanol/agua, 70:30) de las brácteas de *B. glabra*, variedades moradas y naranjas y administrados en el ensayo son inócuos a la dosis de 2.000 mg·kg⁻¹ por vía oral. Adicionalmente, Shalini y col. [26] realizaron una evaluación de la citotoxicidad mostrando que el extracto etanólico de brácteas de *B. glabra* estuvo libre de toxicidad contra células Vero de hígado humano y riñón del mono verde africano, pero no especifican el color de las brácteas usadas. Por otra parte, en otro estudio, Teh y col. [27] mostraron que, los extractos acuosos de las brácteas de *B. glabra* de color púrpura y

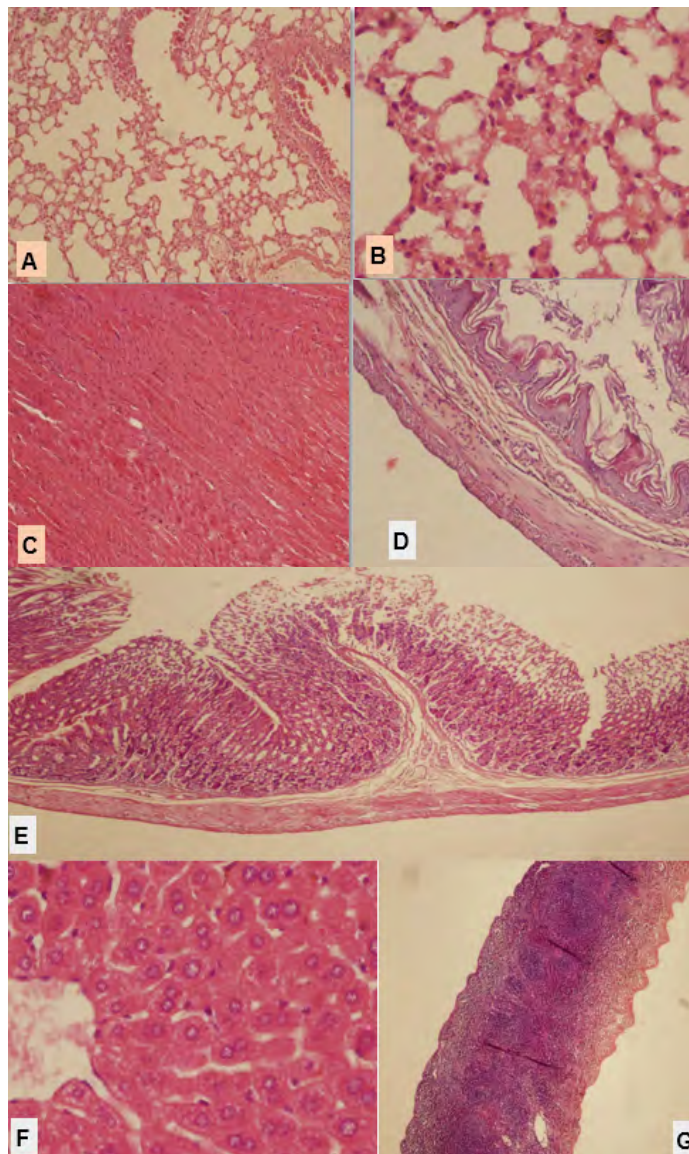


FIGURA 1. Microfotografías del estudio anatomopatológico en el pulmón con bronquiolo (A), pulmón (B), corazón (C), esófago (D), estómago (E), hígado (F), bazo (G)

rosa oscuro no son tóxicos y pueden ser tolerados por los embriones de pez cebra (*Danio rerio*), aunque en algunos casos, los embriones mostraron alteraciones fenotípicas menores, como edema leve del saco vitelino e hipopigmentación, por lo que concluyen que los extractos acuosos derivados de las brácteas de color rosa, púrpura y rosa oscuro de *B. glabra* tienen una toxicidad leve para el embrión. No existen otros estudios de toxicidad específicos para las brácteas de color naranja de *B. glabra*.

Cabe agregar que en otra investigación [13] acerca de toxicidad aguda y subcrónica en una cepa albina de ratas (*Rattus norvegicus*), pertenecientes a la línea Wistar, pero con el extracto acuoso de la planta completa de *B. glabra*, no se observó mortalidad ni signos de cambios de comportamiento en las ratas, a la dosis de 2.000 mg·kg⁻¹.

Evaluación de la actividad antitusiva

En la FIG. 2 se representan los resultados de los efectos de la administración de la suspensión del extracto seco de las brácteas de colores naranja y morada de *B. glabra*, sobre la frecuencia de la tos en 5 min (A) y el período de latencia (B) en la tos inducida en los ratones. Las brácteas de color naranja y morada mostraron tener un efecto antitusivo en el experimento en ratones al prolongar la latencia y reducir la tos. Del análisis de datos mediante ANOVA, se establece que no hay diferencias significativas entre la codeína (T5) y los grupos de los tratamientos (T1 a T4), a excepción del tratamiento (T2) de las brácteas color naranja (BN) a 250 mg·kg⁻¹ que disminuyó significativamente ($P < 0,05$) el número de tos en relación con todos los tratamientos de las brácteas y con el control positivo, la codeína, la cual es un reconocido antitusivo narcótico, pero se le suman efectos secundarios que limitan su uso [3]. Ninguno de los tratamientos modificó significativamente el tiempo transcurrido para que la tos apareciera (latencia), con respecto al control.

Es importante resaltar que el extracto seco con menor concentración (250 mg·kg⁻¹) de las brácteas de color naranja, presentó significativamente ($P < 0,05$) la mayor actividad antitusiva en comparación con la mayor concentración (500 mg·kg⁻¹) del mismo extracto. Al observar los valores promedios de las concentraciones

de alcaloides en las brácteas naranjas, obtenidos en este estudio, éstos fueron mayores ($0,24 \pm 0,02$ mg·g⁻¹) que los de las brácteas moradas ($0,16 \pm 0,02$ mg·g⁻¹).

Es posible que la disminución de la actividad antitusiva cuando se aumenta la dosis del extracto seco, de 250 mg·kg⁻¹ a 500 mg·kg⁻¹, sea debido a las altas concentraciones de los alcaloides que contienen las brácteas. Con la codeína (un alcaloide) ocurrió algo similar de disminución del efecto antitusivo a dosis mayores que 30 mg y se planteó la hipótesis que es probable que altas dosis de codeína en el intestino, en una forma fácilmente absorbible, aporten inicialmente una alta concentración en la mucosa intestinal que impide o al menos retrasa su propia absorción [28].

Otro factor que puede ser posible que produjo la disminución de los efectos antitusivos a la mayor dosis del extracto seco de las brácteas naranjas sea la presencia en su composición química de un antagonista de los receptores sigma (σ), como ocurrió con el dextrometorfano (antitusivo no narcótico de uso común que tiene una mayor afinidad por el receptor sigma), en el cual se redujo significativamente la actividad antitusiva en función de la dosis debido al tratamiento con rimcazol, un antagonista específico de los sitios σ y estos resultados sugieren que los sitios σ pueden estar implicados en el mecanismo antitusígeno de los fármacos antitusivos no narcóticos [29].

Adicionalmente en otro estudio, Jaramillo y col. [30] reportaron que el mayor contenido de fenoles totales y flavonoides y capacidad antioxidante se encontraron también en las brácteas naranjas, en comparación con las brácteas moradas. La multiplicidad de constituyentes presentes en el extracto puede generar interacciones masivas, por lo que no se puede eliminar la posibilidad de presencia de más de un principio activo con diferente sitio de acción [31]. Por lo que se propone que es necesario realizar más investigaciones para comprobar si en el mecanismo de acción en la actividad antitusiva de los extractos secos de las brácteas naranjas alguna de estas hipótesis se cumple para explicar la no dependencia de la dosis en la actividad antitusiva.

CONCLUSIONES

Los resultados de los ensayos de toxicidad aguda, aplicado a la dosis de 2.000 mg·kg⁻¹ del extracto de las brácteas de los colores morado y naranja de *B. glabra*, respectivamente, no produjeron alteraciones en los órganos analizados en ratones CD1, la cual resultó no tóxica al ser ingeridas por vía oral.

La actividad antitusiva se produjo en todos los tratamientos aplicados a los ratones CD1; sin embargo, el tratamiento de 250 mg·kg⁻¹ de las brácteas de color naranja proporcionó significativamente ($P < 0,05$) la mayor actividad antitusiva, en comparación con el tratamiento de 500 mg·kg⁻¹ del mismo color y los otros tratamientos.

Las brácteas naranjas de *B. glabra* tuvieron mayores concentraciones de alcaloides que las moradas. Es posible que altas concentraciones de metabolitos secundarios polares incidan en la no dependencia de la dosis de la actividad antitusiva.

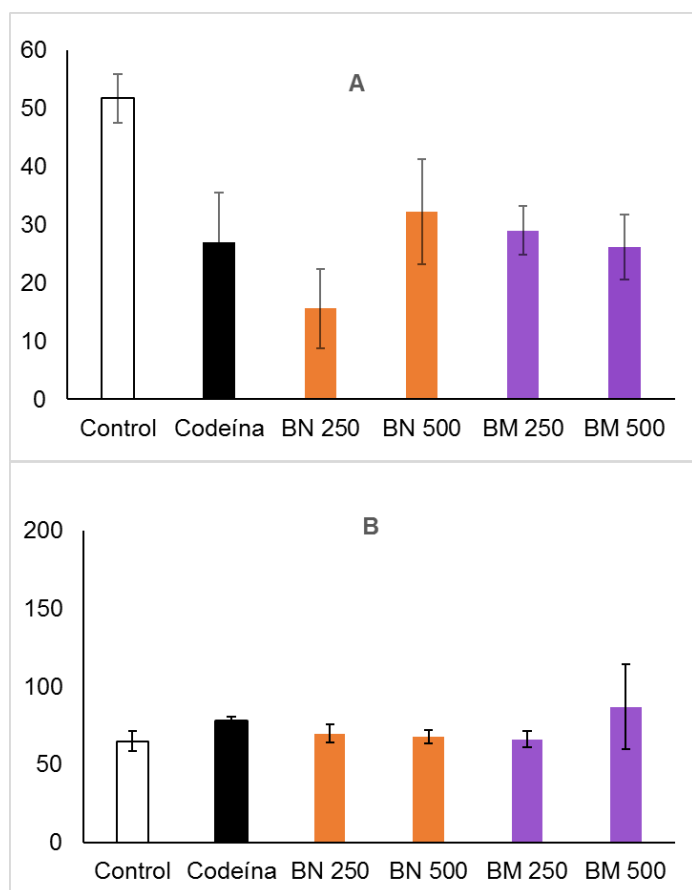


FIGURA 2. Efectos de la administración de la suspensión del extracto seco de las brácteas de colores naranja y morada de *B. glabra* sobre la frecuencia de la tos en 5 min (A) y el período de latencia (B) en la tos inducida en los ratones. Control de ratones (blanco) y codeína como control positivo. BM: *B. glabra* morada, BN: *B. glabra* naranja

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Alqudaihi KS, Aslam N, Khan IU, Almuhaideb AM, Alsunaidi SJ, Ibrahim NMAR, Alhaidari F, Shaik F, Alsenbel Y.M, Alalharith DM, Alharthi HM, Alghamdi WM, Alshahrani MS. Cough sound detection and diagnosis using artificial intelligence techniques: Challenges and opportunities. *IEEE Access*. 2021; 9:102327-102344. doi: <https://doi.org/kbd8>
- [2] Koskela H, Lätti A, Pekkanen J. The impacts of cough: a cross-sectional study in a Finnish adult employee population. *ERJ Open Res*. 2018; 4:00113-2018. doi: <https://doi.org/ggdg64>
- [3] Lam SH, Homme J, Avarello J, Heins A, Pauze D, Mace S, Dietrich A, Stoner M. Use of antitussive medications in acute cough in young children. *J. Ame. Coll. Emerg. Physicians Open*. 2021; 2(3):e12467. doi: <https://doi.org/kbfb>
- [4] Chamberlain SA, Garrod R, Douiri A, Masefield S, Powell P, Bücher C, Pandyan A, Morice AH, Birring SS. 2015; 193(3):401-408. doi: <https://doi.org/kbfd>
- [5] Moghaddam GM, Kianmehr M, Khazdair MR. The possible therapeutic effects of some medicinal plants for chronic cough in children. *Evid. Based Complement Alternat. Med*. 2020; 2020:2149328. doi: <https://doi.org/gpjktx>
- [6] Organización Mundial de la Salud (OMS). Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. [Internet]. Hong Kong: OMS; 2013 [Consultado 3 Sep 2022]. Disponible en: <https://bit.ly/3Mm52nT>.
- [7] Haile AA, Tsegay BA, Seid A, Adnew W, Moges A. A review on medicinal plants used in the management of respiratory problems in Ethiopia over a twenty-year period (2000-2021). *Evid. Based Complement. Alternat. Med*. 2022; 2022:2935015. doi: <https://doi.org/kbff>.
- [8] Waizel-Bucay J, Waizel-Haiat S. Antitussive plants used in Mexican traditional medicine. *Phcog. Rev*. 2009; 3(5): 29-43.
- [9] Abarca-Vargas R, Petricevich VL. *Bougainvillea* Genus: A Review on Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology. *Evid. Based Complement. Alternat. Med*. 2018; 2018:9070927. doi: <https://doi.org/gdwm3h>.
- [10] Saleem H, Usman A, Mahomoodally MF, Ahemad N. *Bougainvillea glabra* (Choisy): A comprehensive review on botany, traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicity. *J. Ethnopharmacol*. 2021; 266:113356. doi: <https://doi.org/kbfg>.
- [11] Boukandou-Mounanga M, Mewono L, Aboughe-Angone S. Toxicity studies of medicinal plants used in sub-Saharan Africa. *J. Ethnopharmacol*. 2015; 174: 618-627. doi: <https://doi.org/f7zmnw>.
- [12] Anywar G, Kakudidi E, Byamukama R, Mukonzo J, Schubert A, Oryem-Origa H, Jassoy C. A Review of the toxicity and phytochemistry of medicinal plant species used by herbalists in treating people living with HIV/AIDS in Uganda. *Front Pharmacol*. 2021; 12:615147. doi: <https://doi.org/kbfb>.
- [13] Krishna R, Sundararajan R. Toxicity studies of *Bougainvillea glabra* and *Mucuna pruriens*. *Intern. J. Pharm. Sci. Res*. 2020; 11(10):4910-4917.
- [14] Robles-Aguilar M, Jaramillo-Jaramillo C, Rojas-de-Astudillo L. Contenido de betalainas y actividad antioxidante en brácteas de *Bougainvillea glabra* Choisy. *Rev. Cubana Farmac*. [Internet] 2018 [Consultado 3 Jul 2022]; 51(2):1-7. Disponible en: <https://bit.ly/3oLxGH3>.
- [15] Wu Q, Fu X, Chen Z, Wang H, Wang J, Zhu Z, Zhu G. Composition, color stability and antioxidant properties of betalain-based extracts from bracts of *Bougainvillea*. *Molecules*. 2022; 27(16):5120. doi: <https://doi.org/kc63>
- [16] Organización Mundial de la Salud. Directrices de la OMS sobre buenas prácticas agrícolas y de recolección (BPAR) de plantas medicinales. [Internet]. Ginebra: OMS; 2003 [Consultado 7 Mar 2022]; 79 p. Disponible en: <https://bit.ly/3NapVnk>.
- [17] Miranda M. Farmacognosia y productos naturales. 2da. ed. Editorial Félix Varela. 2012; p 127-130.
- [18] World Health Organization. Quality control methods for herbal materials. [Internet]. Geneva: WHO Press; 2011 [Consultado 10 Mar 2022]; 187 p. Disponible en: <https://bit.ly/43n7wta>.
- [19] Vinatoru M. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrason. Sonochem*. 2001; 8(3):303-313. doi: <https://doi.org/brwxj3>
- [20] Sreevidya N, Mehrotra S. Spectrophotometric method for estimation of alkaloids precipitable with Dragendorff's reagent in plant materials. *J. AOAC. Intern*. 2003; 86(6):1124-1127.
- [21] National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. [Internet]. Washington (DC): National Academies Press; 2011 [8th edition; Consultado 7 Feb 2022]; 220 p. Disponible en: <https://bit.ly/3MSA03M>.
- [22] Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), Test No. 425: Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure, OECD Guidelines for the testing of chemicals, Section 4. [Internet]. Paris: OECD Publishing; 2022 [Consultado 17 Jul 2022]; p 4-7. Disponible en: <https://doi.org/cmwdqd>
- [23] Mathiasen JR, Moser VC. The Irwin Test and Functional Observational Battery (FOB) for assessing the effects of compounds on behavior, physiology, and safety pharmacology in rodents. *Curr. Protoc. Pharmacol*. 2018; 83(1):e43. doi: <https://doi.org/gjt3wb>
- [24] Chakraborty R, De B, Devanna N, Sen S. Antitussive, expectorant activity of *Marsilea minuta* L., an Indian vegetable. *J. Adv. Pharm. Technol. Res*. 2013; 4(1):61-4. doi: <https://doi.org/f4v3c7>
- [25] Islam MZ, Hossain MT, Hossen F, Akter MS, Mokammel MA. *In-vitro* antioxidant and antimicrobial activity of *Bougainvillea glabra* flower. *Res. J. Med. Plant*. 2016; 10(3):228-236.
- [26] Shalini M, Aminah A, Khalid HM, Vimala S, Katherine S, Khoo MGH. *In-vitro* antioxidant activities, phytoconstituents and toxicity evaluation of local *Bougainvillea glabra* bract (Bunga Kertas). *Intern. J. Chemtech Res*. 2018; 11(9):22-30. doi: <https://doi.org/kc64>
- [27] Teh L, Kue C, Ng C, Lau B. Toxicity effect of *Bougainvillea glabra* (Paper Flower) water extracts on zebrafish embryo. *ITPS*. 2019; 2(1):25-28. doi: <https://doi.org/kc66>

- [28] Redpath JB, Pleuvry BJ. Double-blind comparison of the respiratory and sedative effects of codeine phosphate and (+/-)-glaucine phosphate in human volunteers. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1982; 14(4):555-8. doi: <https://doi.org/kc7b>
- [29] Kamei J. Role of opioidergic and serotonergic mechanisms in cough and antitussives. *Pulm. Pharmacol.* 1996; 9:349-356.
- [30] Jaramillo C, Armijos J, Cedeño R, Campo M, Rojas de AL. Comparación de la relación de fenoles totales, flavonoides y capacidad antioxidante en brácteas de dos variedades de *Bougainvillea glabra* Choisy. *InfoAnalit.* 2021; 91:167-179. <https://doi.org/kc7c>
- [31] Ul Haq R, Wahab A, Ayub K, Mehmood K, Sherkheli MA, Khan RA, Raza M. Antitussive efficacy and safety profile of ethyl acetate fraction of *Terminalia chebula*. *ISRN Pharmacol.* 2013; 2013:256934. doi: <https://doi.org/gb66d5>