

ESTUDIO FITOQUÍMICO Y DE LA ACTIVIDAD ANTIHELMÍNTICA DE LOS EXTRACTOS DE *Sarothamnus scoparius* y *Lupinus ballianus*

Wilfredo Salazar^a, Jorge Cárdenas^a, Sara Villafuerte^d, Irma Fernández^b, León Villegas^b, Luz Pacheco^c, Graciela Untiveros^d

RESUMEN

Se evaluó la actividad antihelmíntica de los extractos acuosos de *Sarothamnus scoparius*, encontrándose un alto porcentaje de eficacia contra el oxiuro *Syphacia obvelata*. *Lupinus ballianus* mostró un alto porcentaje de eficacia hacia el oxiuro *Aspicularis tetraoptera*. La parte aérea de *Sarothamnus scoparius* presenta, alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos, esteroides, triterpenos, antraquinonas, cumarinas y cardiotónicos. *Lupinus ballianus* presenta alcaloides, flavonoides, taninos, esteroides, triterpenos y sesquiterpenos.

Palabras clave: antihelmíntico, oxiuros, enterobius, sarothamnus, lupinus.

PHYTOCHEMICAL STUDY AND ANTIHELMINTIC ACTIVITY OF *Sarothamnus scoparius* AND *Lupinus ballianus* EXTRACTS

ABSTRACTS

The antihelmintic activity of the aqueous extracts of *Sarothamnus scoparius* was evaluated; high percentage of efficacy against the oxyuris *Syphacia obvelata* was obtained. *Lupinus ballianus* showed a high percentage of efficacy against the oxyuris *Aspicularis tetraoptera*. The aerial part of *Sarothamnus scoparius* presents alkaloids, flavonoids, saponines, tannins, steroids, triterpens, anthraquinones, cumarins and cardiotonics. *Lupinus ballianus* presents alkaloids, flavonoids, tannins, steroids, triterpens, and sesquiterpenolactones.

Key words: antihelmintic, oxyuris, enterovius, euphorbia, baccharis

INTRODUCCIÓN

La enterobiosis u oxiuriasis es producida por *Enterovius vermicularis*, nemátodo de amplia distribución mundial, presente en todos los climas, niveles sociales y económicos de la población; afecta mayormente a los niños¹.

La transmisión es de persona a persona por la ingestión de huevos del parásito; las larvas se incuban en el intestino delgado y luego maduran en el colon. La hembra grávida migra hacia

^a Dpto. de Ciencias Biológicas y Fisiológicas, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia.

^b Dpto. de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia.

^c Dpto. de Microbiología, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia

^d Dpto. de Química, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia, avenida Honorio Delgado 430. Lima 31, Perú. guntiveros@upch.edu.pe

el área anal, sobre todo en la noche, liberando entre 4000 a 20000 huevos los cuales, al encontrarse en las condiciones apropiadas (humedad, aerobiosis), desarrollan en 30 días la forma adulta².

La migración de los parásitos puede desencadenar una reacción alérgica e inflamatoria local, agravada por infecciones secundarias o por lesiones traumáticas (rascado); en el caso de las niñas los parásitos pueden migrar hacia los genitales y producir vaginitis².

Estudios en otros países señalan las altas prevalencias en relación directa con el nivel de educación, condiciones de vida, hacinamiento y los hábitos de higiene inadecuados. La prevalencia de enterobiosis, realizada en nuestro país por el método de Graham varía de un área a otra. Así, en guarderías de la ciudad de Arequipa se ha encontrado 34,4 % entre niños de 1,5 a 6 años de edad, en Tacna entre escolares de 6 a 16 años se encontró 32,98 %, en el distrito limeño del Rímac se halló 32,2%. Una alta prevalencia desde 75,39 a 79,5 % se encontró en Ica y Tarapoto, respectivamente³.

Estos factores, incluyendo la dificultad del acceso a antihelmínticos efectivos en las zonas de escasos recursos, nos han impulsado a comprobar la utilidad de los extractos acuosos de *Sarothamnus scoparius* y de *Lupinus ballianus* como antihelmínticos basados en el conocimiento de la medicina tradicional^{4,5}.

El oxiuro *Enterobius vermicularis* tiene un ciclo de vida muy parecido al oxiuro *Syphacia obvelata*, en tanto que el *Aspicularis tetraptera* tiene un ciclo de vida directo de 23 a 25 días; las hembras liberan sus huevos en el colon, los que son eliminados en las heces; se vuelven infectivos de 6 a 7 días, la vía de infección es por la ingestión de huevos infectivos en alimentos o agua⁶.

Se han venido haciendo trabajos que extrapolan los resultados desde modelos animales con los oxiuros *Syphacia obvelata* y *Aspicularis tetraptera*, encontrados en los ratones de laboratorio, que presentan ciclo de vida similar y sensibilidad a los mismos fármacos utilizados contra *Enterobius vermicularis*⁷.

Según los estudios etnobotánicos realizados por la Bióloga Irma Fernández en diferentes comunidades del Perú, se obtuvo conocimiento de varias plantas con actividad antihelmíntica de las cuales vamos a detallar dos:

- ***Sarothamnus scoparius* (Koch)**, tiene varios sinónimos como *Spartium scoparium* Linn., *Genista scoparius* (Lam.), *Cytisus scoparius* Linn., entre otros de la familia de las Fabaceae, conocida como “retama negra”, “escoba negra”; fue colectada a orillas del río Itaya, provincia de Maynas, Departamento de Loreto (vaucher IFV 2335, Herbario de la Facultad de Ciencias y Filosofía de la Universidad Peruana Cayetano Heredia). Los pobladores preparan una infusión con una cuchara de hojas y tallos en una taza de agua hirviendo, después de 10 minutos lo cuelean y lo beben en ayunas para eliminar parásitos.
- ***Lupinus ballianus* C.P., Smith**, conocida con los nombres de "tarwi silvestre" y "jera"; pertenece a la familia Fabaceae; su hábitat son lugares templados y fríos; es una planta endémica del Perú; se colectó en la quebrada de Llaca, al norte de la laguna Churup, provincia de Huaraz (4200 msnm) (vaucher IFV2330, Herbario de la Facultad de Ciencias y Filosofía de la Universidad Peruana Cayetano Heredia). Los lugareños

preparan una infusión de la parte aérea de la planta y la beben en ayunas contra los parásitos.

Objetivos

- Evaluar la acción antihelmíntica de los extractos acuosos de *Sarothamnus scoparius* y *Lupinus ballianus* de concentración, 125mg, 250mg y 500 mg por Kg de ratón contra los oxiuros *Syphacia obvelata* y *Aspiculuris tetraptera*.
- Determinar la naturaleza de los metabolitos secundarios de las partes aéreas de las plantas evaluadas por estudios fitoquímicos.
- Determinar los efectos tóxicos de los extractos inoculados mediante la determinación de la DL50.

PARTE EXPERIMENTAL

Se colectó 10 kg de las partes aéreas de las plantas, se secó a condiciones ambientales, bajo sombra. Se elaboró un voucher de cada planta, los que fueron depositados y conservados en el herbario de la Facultad de Ciencias y Filosofía de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Se maceraron 100 gramos de cada planta seca y molida con etanol de 96 grados durante quince días, se filtraron y el extracto se concentró en un rotavapor al vacío. Se realizaron tres tipos de marchas fitoquímicas a los extractos concentrados de cada planta para determinar los metabolitos secundarios presentes por pruebas de identificación coloreadas, precipitación y cromatografía de capa fina^{8,9}.

Para las pruebas de la actividad antihelmíntica de los extractos de las plantas, se prepararon infusiones de *Sarothamnus scoparius* y de *Lupinus ballianus*; se filtraron y el filtrado se liofilizó. A partir de éstos se prepararon las soluciones acuosas de 125, 250 y 500 mg de extracto¹⁰.

Se utilizaron ratones machos de la raza Balb C, de aproximadamente 22 gramos, para todas las pruebas. A todos los ratones se les hizo el test de Graham para comprobar la presencia de oxiuros; los que daban negativo al test, se colocaban junto a otros ratones infectados, realizando diariamente el test de Graham para asegurarnos que todos estén infectados.

Se trabajó con 10 ratones para evaluar la actividad antihelmíntica de cada extracto acuoso; así también para el control negativo (solución salina de NaCl al 10 % p/v) y el control positivo (solución acuosa de mebendazol 50 mg). Se les inoculó por vía oral 0,5 mL de extracto, por 3 días seguidos; al cuarto día se les sacrificó por dislocación cervical y se procedió a diseccionar para extraer los intestinos.

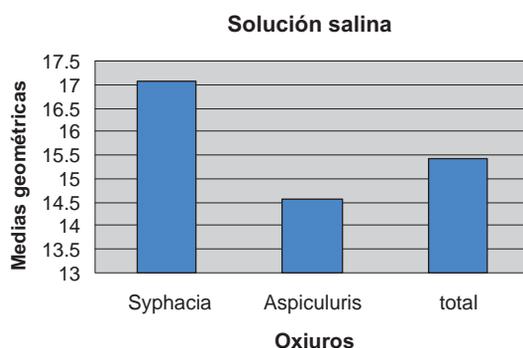
En el intestino grueso se determinó la cantidad de oxiuros *Syphacia obvelata* y *Aspiculuris tetraptera* por conteo en el microscopio.

Para la DL50 aguda, se disuelve la máxima cantidad posible de cada extracto liofilizado en agua destilada. Se le aplica a 10 ratones 0,5 mL de cada extracto; en paralelo se usan 10 ratones para el control positivo y el control negativo. Se observaron los ratones durante tres días seguidos para ver si había un cambio en su comportamiento o si se producía la muerte¹¹.

RESULTADOS

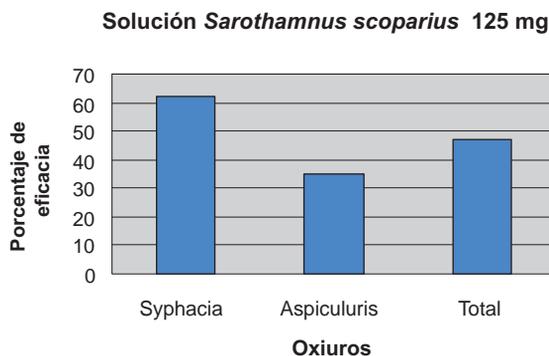
Los resultados encontrados en las pruebas antihelmínticas son estadísticamente evaluados con ayuda del programa SPSS 10.0; se realizó el análisis de ANOVA y Test de medias.

Los resultados de la evaluación del control negativo (solución de NaCl al 10 % p/v) se muestran en la gráfica 1.

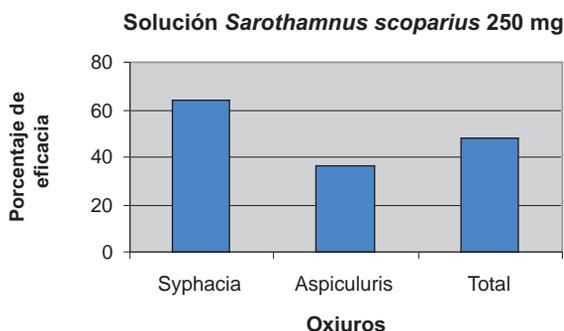


Gráfica 1 .Determinación de las medias geométricas de los oxiuros.

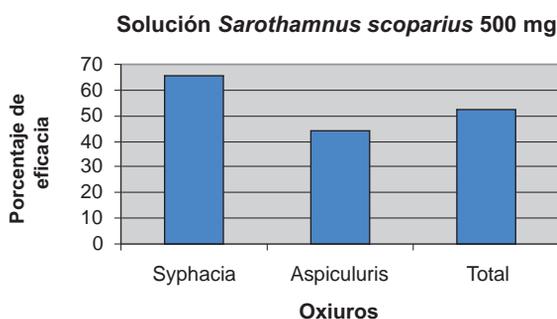
Las gráficas 2, 3 y 4 muestran el efecto de las concentraciones de las soluciones de *Sarothamnus scoparius* sobre los oxiuros, *Syphacias obvelata* , *Aspiculuris tetraptera* y oxiuros totales.



Gráfica 2 . Porcentaje de eficacia de la solución de *Sarothamnus scoparius* de 125 mg sobre cada tipo de oxiuro y el total.

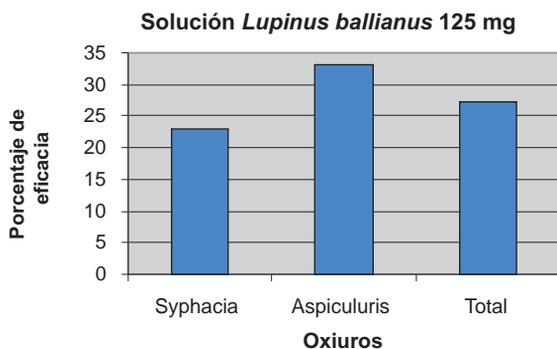


Gráfica 3. Porcentaje de eficacia de la solución de *Sarothamnus scoparius* de 250 mg sobre cada tipo de oxiuro y el total.

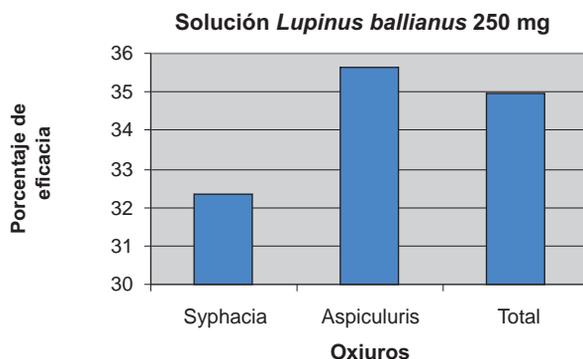


Gráfica 4. Porcentaje de eficacia de la solución de *Sarothamnus scoparius* de 500 mg sobre cada tipo de oxiuro y el total.

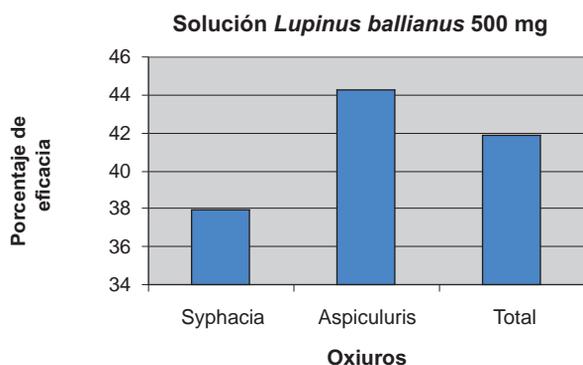
Las figuras 5, 6 y 7 muestran el efecto de las concentraciones de las soluciones de *Lupinus ballianus* sobre *Syphacia obvelata*, *Aspiculuris tetraptera* y oxiuros totales.



Gráfica 5. Porcentaje de eficacia de la solución de *Lupinus ballianus* de 125 mg sobre cada tipo de oxiuro y el total.



Gráfica 6. Porcentaje de eficacia de la solución de *Lupinus ballianus* de 250 mg sobre cada tipo de oxiuro y el total.



Gráfica 7. Porcentaje de eficacia de la solución de *Lupinus ballianus* de 500 mg sobre cada tipo de oxiuro y el total.

Los resultados de la DL50 aguda para los extractos de ambas plantas demuestran que no son tóxicos; no hay cambio en la conducta de los ratones evaluados ni mortandad.

El estudio fitoquímico de las partes aéreas muestran que *Sarothamnus scoparius* presenta alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos, esteroides, triterpenos, antraquinonas y cardiotónicos, y *Lupinus ballianus* presenta alcaloides, flavonoides, taninos, esteroides, triterpenos y sesquiterpenlactonas.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los extractos acuosos de *Sarothamnus scoparius* contienen alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos, que son compuestos polares; han demostrado una considerable eficacia sobre los oxiuros *Syphacia obvelata*., obteniéndose porcentajes de eficacia de 62,34 %, 64,10 % y 65,90 % para las concentraciones de 125 mg, 250 mg y 500 mg., respectivamente. Se encontró que el porcentaje de eficacia contra los oxiuros *Aspiculuris tetraptera* es menor, obteniéndose valores de 34,78 %, 36,70 y 44,11 %, respectivamente.

Se encontró una relación directa dosis-respuesta entre la concentración de los extractos de *Lupinus ballianus* y el porcentaje de eficacia encontrado; vale la pena recalcar que la acción sobre el oxiuro *Aspiculuris tetraptera* es mayor que sobre *Syphacia obvelata*. Encontrándose valores de porcentaje de eficacia de 33,14 %, 35,65 % y 44,25 % sobre el oxiuro *Aspiculuris tetraptera* para concentraciones de 125 mg, 250 mg y 500 mg. El extracto de la parte aérea contiene alcaloides, flavonoides taninos que podrían participar de la acción nematocida del extracto.

Se ha utilizado solución acuosa de mebendazol como control positivo, para comparar la acción antihelmíntica de los extractos de la *Sarothamnus scoparius* y de *Lupinus ballianus*, en tanto que los extractos tienen una mezcla de los metabolitos secundarios mencionados.

Hay ciertas diferencias en los ciclos de vida de los oxiuros evaluados; por ello que los extractos afectan en algunos casos selectivamente a un tipo de oxiuro. Como se mencionó, al utilizar un modelo animal, en este caso ratones, lo que se quería era determinar la actividad antihelmíntica de los extractos sobre el oxiuro *Enterovius vermicularis*, que tiene un ciclo de vida similar a la *Syphacia obvelata*.

Queda por separar e identificar los principios activos responsables de la actividad antihelmíntica de cada planta.

CONCLUSIONES

- Los extractos acuosos obtenidos de la parte aérea de *Sarothamnus scoparius* tienen un porcentaje elevado de eficacia contra el oxiuro *Syphacia obvelata* y menor eficacia para el oxiuro *Aspiculuris tetraptera*.
- Los extractos de *Lupinus ballianus* son más eficaces contra el oxiuro *Aspiculuris tetraptera* y presentan menor eficacia para el oxiuro *Syphacia obvelata*.
- En todos los casos la actividad antihelmíntica aumenta con la concentración del extracto.
- Extrapolando el modelo animal usado, se puede concluir que los extractos de la *Sarothamnus scoparius* son más eficaces en la actividad antihelmíntica que los de los extractos de *Lupinus ballianus* contra el oxiuro *Enterobius vermicularis*.
- La DL50 de los extractos de ambas plantas demuestran que no son tóxicos.
- La parte aérea de *Sarothamnus scoparius*, presenta alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos, esteroides, triterpenos, antraquinonas, cumarinas y cardiotónicos.

- La parte aérea de *Lupinus ballianus*, presenta alcaloides, flavonoides, taninos, esteroides, triterpenos y sesquiterpenlactonas.

AGRADECIMIENTOS

A la señora vice Rectora de Investigación de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, Doctora Fabiola León Velarde Servetto; al señor Decano y al Jefe de Departamento de Química de la Facultad de Ciencias y Filosofía de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, por su apoyo en el desarrollo del proyecto. En especial a los alumnos de las especialidades de Química, Biología y Farmacia que participaron activamente durante la ejecución del proyecto.

REFERENCIAS

1. Del Risco, U. Enterobiasis en círculos infantiles. XIII Congreso Latinoamericano de Parasitología. La Habana. 1997, 146-147.
2. Botero, D. Parasitosis humanas. Editorial COPARIB, Colombia, 1994, 145 – 189.
3. Beltrán, M. Enterovius vermicularis y enterobiasis en el Perú. *Revista Perú Medicina Tropical*, 1999, 32(1), 60–68.
4. Brack, A. Diccionario Enciclopédico de plantas útiles del Perú. Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de las Casas, Cuzco, 1999, 234 – 321.
5. Valdivia, O. Medicina Folklórica y su substrato aborigen en el Perú. Editorial de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, 1986, 264–285.
6. Bazzano, T. Patterns of infection with the nematodes *Syphacia obvelata* and *Aspiculuris tetraptera* in conventionally maintained laboratory mice. Editorial PAIDOS, Argentina, 2002, 547 - 853
7. Muñoz, L. Validación del efecto antihelmíntico de plantas usadas por la medicina tradicional. Tesis para Obtener el Grado de Bachiller en Medicina. Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, 1999, 32–46.
8. Farnsworth, N. Biological and Phytochemical Screening of Plants. *Journal of Pharmacological Science*, 1996, 71, 215–275.
9. Griffin, W. And Lin, D. *Phytochemistry*. 2000, 53, 623 – 645.
10. Vitale, A. *Journal of Etnopharmacology*. 1995, 49, 67 – 77.
11. Askew, E. *Toxicology*. 2002, 180(2), 112- 123.