

Estudio preliminar para determinar el potencial empleo de extractos de *Prosopis flexuosa* v. algarrobo y *Ruta chalepensis* v. ruda, en la formulación de fármacos*

Toso, R.E.^{1,2}; Boeris, M.A.¹; Ardoino, S.¹; Toribio, M.S.¹; Poblete, G.¹; Rios, F.¹

Resumen: Se evaluó el efecto que produce la administración oral de extractos hidroalcohólicos de *Prosopis flexuosa* y *Prosopis alpataco* sobre la motilidad gástrica en un canino. Este estudio preliminar se llevó a cabo con el objeto de determinar si estos extractos, de igual manera que en ratones, retrasan el vaciado gástrico. Estos ensayos tuvieron como finalidad evaluar nuevos compuestos que puedan formularse con antiparasitarios como el albendazol, para favorecer la absorción aumentando el tiempo que permanecen en el estómago en contacto con pH ácido. Los resultados de estos ensayos determinaron que *Prosopis flexuosa* no produce variaciones en el tiempo de vaciado gástrico, aumentando la motilidad intestinal. La dosis de extracto hidroalcohólico de *Ruta chalepensis* empleada en estos ensayos resultó tóxica produciendo aumento de la motilidad gastrointestinal y vómitos. Se concluye que deberán realizarse nuevos estudios utilizando dosis menores para determinar el potencial de estos extractos.

Palabras clave: albendazol, *Prosopis flexuosa*, *Ruta chalepensis*, vaciado gástrico

Preliminary study to determine the potential use of extracts of *Prosopis flexuosa* (algarrobo) and *Rutachalepensis* (ruda) in drugs formulation.

Abstract: The effect of the oral administration of hydroalcoholic extracts of *Prosopis flexuosa* and *Prosopis alpataco* was evaluated on the gastric motility in a canine. This preliminary study was conducted in order to determine if these extracts, the same as in mice, delay gastric emptying. The aim of these tests is to evaluate new compounds that can be formulated with antiparasitic drugs as albendazole, to promote absorption by increasing the time they spend in contact with stomach acid pH. The results of these tests determined that *Prosopis flexuosa* do not produce variations in the gastric emptying time, increasing intestinal motility. The dose of *Rutachalepensis* hydroalcoholic extract used in these assays was toxic producing increased gastric motility and vomits. We conclude that further studies should be performed using lower doses to determine the potential of these extracts.

Keywords: albendazole, *Prosopis flexuosa*, *Ruta chalepensis*, gastric emptying.

Introducción

Las helmintosis afectan tanto a los humanos como al ganado provocando una de las infecciones más importantes del mundo. En el ámbito ganadero producen pérdidas económicas de gran importancia que han justificado numerosas investigaciones con el objeto de controlarlas. Esta ha

* Recibido: 00/00/2013. Aceptado: 00/00/2013.

1 CIDEF. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa. Calle 5 y 116 (6360).

2 Email R.E. Toso: retoso@cidef.com.ar

sido la razón que ha llevado a que los mayores avances se produzcan en el entorno de la salud animal. La estimación global de parasitismo realizada en la década de los 40, ha sufrido escasas modificaciones a través de los años teniendo sólo modificaciones proporcionales al crecimiento global de la población (Bundy *et al.*, 1990).

En 1961 se descubrió el tiabendazol a partir del cual comenzó a investigarse un importante grupo químico de compuestos con actividad antihelmíntica, los bencimidazoles. En la práctica clínica solamente elbendazol, flubendazol y mebendazol, pertenecientes a este grupo, son utilizados con mayor frecuencia. El albendazol es de amplio uso en medicina veterinaria y humana para el tratamiento de parasitosis antiprotozoarias y antihelmínticas (Campbell y Rew, 1986).

Como la mayor parte de los bencimidazoles, el albendazol es un agente antihelmíntico que tiene como propiedad físico química destacable su escasa solubilidad en medios acuosos a lo que se suma su rápido metabolismo. La baja solubilidad es una ventaja para el tratamiento de los parásitos que se localizan en el intestino o cerca de la mucosa gastrointestinal ya que puede mejorar su acción al aumentar la concentración en la luz del tracto gastrointestinal. Pero la escasa absorción impide que se logren concentraciones efectivas en órganos como hígado, cerebro, pulmones o tejido muscular. Para superar esta dificultad y mejorar la biodisponibilidad y por lo tanto la eficacia en infecciones sistémicas debe administrarse dosis altas y prolongadas.

El albendazol ha demostrado efectividad sistémica en infecciones como la hidatidosis (Natividad *et al.*, 2009) y la neurocisticercosis en humanos (Román, 2003).

En caninos, su baja solubilidad determina una absorción limitada, lo que unido a su rápido metabolismo hace que se utilice frecuentemente para tratar parásitos intestinales (Marriner, 1986). Para que sea efectivos en el tratamiento de parasitosis sistémicas, con localización en los tejidos, debe administrarse dosis altas y prolongadas.

Considerando esta característica que determina limitaciones en sus usos terapéuticos y siendo un antiparasitario de amplio espectro y con alta efectividad, el albendazol es un compuesto idóneo para el ensayo de nuevas formulaciones con el objetivo de mejorar su biodisponibilidad sistémica para ampliar su espectro de indicaciones.

La farmacotecnia propone distintos recursos tecnológicos para mejorar la solubilidad de moléculas insolubles. Entre ellas puede mencionarse la formación de complejos con ciclodextrinas (Munguía Sóchihua *et al.*, 2010)

Otras técnicas consisten en administrar el antiparasitario junto con dietas ricas en grasa que aumentan la permanencia del fármaco en la luz estomacal. Esto se explica porque el albendazol mejora su solubilidad en medio ácido. Por esta razón, es necesario que se disuelva en el estómago para que se encuentre en su forma molecular dispersa. En el intestino se conjuga con la tubulina de los parásitos inhibiendo la polimerización de la misma en los microtúbulos (Lacey y Prichard, 1990). De esta manera se bloquean la integridad y funciones de transporte de las células absorbentes dentro del parásito.

Parte del albendazol es rápidamente absorbido en el intestino y metabolizado en el hígado produciendo dos metabolitos: albendazolsulfóxido activo (ABZO) y albendazolsulfona inactivo (ABZO2) (McKellar y Scott, 1990).

Los caninos tienen un tiempo de vaciado gástrico muy corto. Esta característica fisiológica unida al metabolismo y farmacocinética del albendazol explican su baja disponibilidad y escasa actividad para parásitos alojados en los tejidos extraintestinales sobre los cuales actúa el ABZO (Lanusse y Prichard, 1993).

La particular farmacocinética del albendazol hace necesario que el medicamento permanezca el mayor tiempo posible en el estómago para que el pH ácido favorezca la disolución de la droga y luego pase a intestino para actuar sobre los parásitos intestinales (Ali y Chick, 1992). Al mismo tiempo, por ser una base débil se absorberá muy poco en el estómago, pero se encontrará en su mayor parte no ionizada a pH básico del intestino favoreciendo su distribución sistémica.

Sin embargo el albendazol absorbido se metaboliza tan rápido que no logra concentraciones plasmáticas detectables siendo, como se explicó anteriormente, su metabolito ABZO el responsable de la acción contra parásitos sistémicos (Lubega y Prichard, 1991).

Lo expuesto sugiere que si se lograra aumentar el tiempo de permanencia en el estómago, aumentaría la absorción y por lo tanto el efecto sobre parásitos alojados en los tejidos extraintestinales. Según Álvarez (1994) para asegurar una presencia sostenida de la droga en la biofase pueden utilizarse estrategias tales como acortar el periodo entre dosis, incrementar la dosis, prolongar el periodo de tratamiento y utilizar formulaciones que aseguren una mayor disolución del principio activo.

En este trabajo se pretende realizar una contribución al desarrollo de formulaciones que mejoren la biodisponibilidad del albendazol aumentando el tiempo de permanencia de la droga en el estómago.

Para lograr este objetivo se postula diseñar una formulación galénica para administración por vía oral, cuya formulación contenga albendazol más un extracto vegetal que retrase el vaciado gástrico. Para elaborar esta formulación en futuros estudios se podría utilizar como recurso farmacotécnico el método de dispersión de sólidos (Sekiguchi, 1961).

Ensayos previos han demostrado que extractos hidroalcohólicos de *Prosopisstrombulifera*, *Prosopis flexuosa* y *Prosopis alpataco* retrasan el vaciado gástrico en ratones (Boeris *et al.*, 2010). Otros trabajos realizados, empleando el mismo modelo experimental, determinaron que el mayor efecto encontrado hasta el momento es producido por extractos de *Rutachalepensis* L. (Toso *et al.*, 2009).

De acuerdo con lo expuesto se propuso un plan de trabajo que consiste en determinar en ensayos preliminares si los extractos hidroalcohólicos de *Prosopis flexuosa* y *Rutachalepensis* L., que demostraron retrasar significativamente el vaciado gástrico en ratones, también logran producir este efecto en caninos. En este trabajo se describen los resultados obtenidos utilizando un mismo animal permitiendo un período de reposo entre ensayo y ensayo para evitar las diferencias biológicas entre animales. Estos ensayos preliminares servirán para obtener información sobre el potencial efecto de la administración de una formulación galénica conteniendo extractos vegetales y albendazol sobre la biodisponibilidad del albendazol en caninos.

\ Materiales y métodos \

Modelo experimental: para *determinar el tiempo de vaciado gástrico en el canino que se empleó en estos ensayos* se utilizó para todos los ensayos un canino macho de raza mestiza de 4,840 kg de peso y 7 años de edad. Fue alimentado con alimento balanceado respetando un régimen de horarios y cantidad. Fue sometido a ayuno de sólidos a partir de las 22:00 h del día anterior y de agua a partir de las 11:30 h, cinco horas antes del ensayo. Se le administró una solución de contraste de sulfato de bario por vía oral y se comenzaron a tomar radiografías seriadas inmediatamente y cada 30 minutos hasta completar el vaciado gástrico. Luego de dos días de reposo, se repitió el procedimiento explicado dos veces, manteniendo el lapso de dos días entre ensayos, mezclando en cada caso la solución de contraste con extracto hidroalcohólico de *Prosopis flexuosa* y *Ruta chalepensis* respectivamente. La lectura de resultados se realizó comparando el progreso de la solución de contraste en el tracto gastrointestinal en las placas radiográficas

Obtención de los extractos hidroalcohólicos de *Prosopis flexuosa* n.v. algarrobo y *Ruta chalepensis* n.v. ruda: se empleó el método descrito por Toso

et al. (2009). Las plantas fueron recolectadas en la Provincia de La Pampa. Se obtuvieron extractos hidroalcohólicos por maceración a partir de 200 g de partes aéreas desecadas de las plantas. Se extrajeron con 1.000 ml de una solución etanol : agua (1:1, v/v) durante 24 h (3x). Los extractos fueron llevados a sequedad en rotavapor a una temperatura de 70 °C y conservados a -20°C en el Banco de Extractos Vegetales de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLPam (CIDEF) hasta el momento de los ensayos (Steibel *et al.*, 2007). Un espécimen de referencia de cada especie vegetal fue depositado en el Herbario de la Facultad de Agronomía de la UNLPam.

Preparación y dosis de la solución de bario con los extractos vegetales para su administración: para determinar el tiempo normal de vaciado gástrico se administró por vía oral 26,5 g de solución de Sulfato de Bario (Gastropaque 'S', Lab. Temis - Lostaló S. A.) disuelta en 30 ml de agua destilada.

Utilizando el mismo procedimiento de preparación se emplearon los 30 ml de la solución de contraste para diluir una dosis de 1,6 g/kg del extracto vegetal desecado tanto para *Prosopis flexuosa* como para *Ruta chalepensis*. La dosis de extractos se expresa como la cantidad de extracto hidroalcohólico desecado obtenido a partir de 1,6 g de partes aéreas secas según el método empleado por Toso *et al.* (2009) administrado por cada kg de peso del animal.

\ Resultados \

Las radiografías seriadas determinaron que el vaciado gástrico considerado normal para el canino estudiado, se produjo entre 1 h y 1:30 h pos administración en el ensayo control sin extractos vegetales.

Con la administración del extracto hidroalcohólico de *Prosopis flexuosa* el vaciado gástrico se produjo entre 1 h y 1:30 h pero se observó una mayor actividad en la motilidad intestinal que se evidenció por la mayor distribución de la sustancia de contraste en el tracto intestinal. La administración del extracto hidroalcohólico de *Ruta chalepensis* produjo el vaciado gástrico entre los 30 minutos y 1 h, con mayor progreso y distribución en el tracto intestinal de la sustancia de contraste con respecto al observado con *Prosopis flexuosa*. Además se produjeron vómitos repetidos 1:40 h pos administración.

\ Discusión \

El efecto observado al administrar el extracto hidroalcohólico de *Prosopis flexuosa* es consistente con las observaciones realizadas en ratones cuando se administraron extractos de tallos de esta especie vegetal (Toso *et al.*, 2012). En esos ensayos los autores determinaron que si bien se lograba retrasar el

vaciado gástrico, se producía en forma simultánea un aumento del tránsito intestinal cuando las partes aéreas estaban constituidas por gran parte de tallos, datos no publicados. En los resultados obtenidos en este trabajo preliminar, las radiografías seriadas fueron tomadas cada 30 minutos pudiendo ser la causa que impidió observar diferencias entre el tiempo de vaciado gástrico al emplear el extracto de *Prosopis flexuosa* con respecto a las radiografías obtenidas cuando se administró solamente la solución de contraste

Los efectos observados al administrar extracto hidroalcohólico de *Ruta chalepensis* pueden atribuirse a una sobredosis, ya que la administración de concentrados de la planta producen vómitos y diarreas, posiblemente por la presencia del flavonoide rutina que ha sido reportado como tóxico (Mulet, 1977).

\ Conclusiones \

El objetivo de este trabajo fue buscar un componente vegetal para combinar con el albendazol, logrando un preparado farmacéutico que pudiera mantener durante mayor tiempo al antiparasitario en el estómago. Este efecto favorecería la exposición del fármaco al pH ácido aumentando la solubilidad y por lo tanto la tasa de absorción para lograr una mayor biodisponibilidad sistémica.

Los resultados obtenidos en este ensayo preliminar determinan que la transferencia de efectos observados en ratones a los caninos requiere de mayores estudios, como por ejemplo realizar una curva dosis respuesta con el extracto de *Ruta chalepensis*. Estos ensayos podrán determinar si es posible encontrar una dosis terapéutica segura que retrase el tiempo de vaciado gástrico, sin producir vómitos ni aumento de la motilidad intestinal.

Considerando los efectos observados sobre intestino con la administración de *Prosopis flexuosa* se realizarán otros estudios para determinar si se descarta a esta especie ya que si bien podría mejorar la absorción sistémica, produciría un efecto indeseado sobre los helmintos intestinales ya que su permanencia sería más corta al aumentarse el peristaltismo.

\ Bibliografía \

Ali, D.N.; Chick, B.F. 1992. The effect of fan oil formulation on the systemic availability of oxfendazole. International Journal of Parasitology, 22(4):541- 543.

Alvarez, L.; Saumell, C.; Sánchez, S.; Lanusse, C. 1994. Comportamiento farmacocinético

de los metabolitos de albendazole en cerdos. Avances en Ciencias Veterinarias 9(2):123-126.

Boeris, M.A.; Sanchez, G.; Toso, R.E. 2010. "Efecto de extractos de *Prosopis* spp. (Leguminosae) sobre la motilidad gastrointestinal

- nal en ratones". X Simposio Argentino XII Simposio Latinoamericano de Farmacobiología. Córdoba. Argentina. Pág. 108.
- Bundy, D.A.P.; Wong, M.S.; Lewis, L.L.; Horton, J. 1990. Control of geohelminths by delivery of targeted chemotherapy through schools. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 84(1):115-120.
- <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003592039090399Y> - AFF3
- Campbell, W.C.; Rew, R.S. 1986. Chemotherapy of parasitic diseases. Eds. Campbell, W.C.; Rew, R.S. ISBN 0-306-42029-5. Pág. 655.
- Lacey, E.; Prichard, R. 1986 Interactions of benzimidazole (BZ) with tubulin from BZ-sensitive and BZ-resistant isolates of *Haemonchus contortus*. Mol. Biochem. Parasitol., 19: 171-181.
- Lanusse, C.; Prichard, R. 1993. Clinical pharmacokinetic and metabolims of benzimidazoleanthelmintics in ruminants. Drug Metab. Rev., 25:235-279.
- Lubega, G.; Prichard, R. 1991. Interaction of benzimidazoleanthelmintics with *Haemonchus contortus* tubulin: binding affinity and anthelmintic efficacy. Exp. Parasitol., 73:203-209.
- Marriner, J. 1986. Anthelmintic drugs. Vet. Rec., 118: 181-184.
- Mckellar Q.; Scott, E. 1990. The benzimidazole anthelmintic agents-a review. J. Vet. Pharmacol. Therap., 23:223-247.
- Mulet, L. 1997. Flora Tóxica de la Comunidad Valenciana. Diputación Provincial Castellón. <http://rjb.revistas.csic.es/index.php/rjb/article/download/44/44>
- Munguía Xóchihua, J.A.; Ibarra Velarde, F.; Vera Montenegro, Y.; Rosiles M.; Romo Mancillas, A.; Cantó Alarcón, J.; DucoingWatty, A. 2010. Solubilidad de un compuesto con actividad fasciolicida: evaluación de eficacia in vitro y en ovinos experimentalmente infectados con *Fasciola hepatica*. Vet. Méx 41(1): 1-11
- Natividad, I.; Ferrufino, J.C.; García, A.; Magaña, C.; Ramírez, C. 2009. Hidatidosis muscular primaria: reporte de un caso. Rev. peru. med. exp. salud publica .26(1): 113-116. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342009000100020&lng=es&nrm=iso>. ISSN 1726-4634. [citado 2013-10-12].
- Román, G. 2003. La neurocisticercosis: una perspectiva de salud pública. Rev Neurol 36(1): 71.
- Sekiguchi, K.; Obi, N.; Veda, Y. 1961. Chem. Pharm. Bull. 866-872.
- Steibel, P.E.; Troiani, H.O.; Oriani, D.S.; Ardoino, S.M.; Toribio, M.S.; Boeris, M.A.; Toso, R.E. 2007. Banco de extractos vegetales de plantas nativas y naturalizadas de la Provincia de La Pampa. Avances de la Farmacobotánica en Latinoamérica (2004 – 2007). 1era. Edición. Pág. 61.
- Toso, R.E.; Boeris, M.A. 2009. Modelo experimental para evaluar el efecto de drogas sobre el vaciado gástrico y tránsito intestinal en ratones utilizando rayos x. III Reunión Científica Regional ICLAS, FESSACAL, ACCMAL. Biomodelos Aplicados al Desarrollo e Innovación Tecnológica. Montevideo, Uruguay. Pág. 119.
- Toso, R.E.; Poblete, G.; Boeris, M.A. 2012. Efecto de *Prosopis flexuosa* DC. var. *flexuosa* ("algarrobo") sobre la motilidad gastrointestinal. Ciencia Veterinaria 14(1):54-61