

## Actividad fasciolicida *in vitro* de *Portulaca oleracea* L.

Marialina ROMERO JIMÉNEZ <sup>1\*</sup>, Erelvio OLAZÁBAL MANSO <sup>2</sup>,  
Yusnel MARTÍNEZ <sup>3</sup>, Héctor SERRANO <sup>2</sup> & Alcides MONTEAGUDO <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Farmacia, Facultad de Química Farmacia, Universidad Central de Las Villas,  
Carretera a Camajuaní Km 5<sup>1/2</sup>. Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

<sup>2</sup> Centro de Bioactivos Químicos. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas,  
Carretera a Camajuaní Km 5<sup>1/2</sup>. Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

<sup>3</sup> Hospital Militar "Manuel Fajardo", Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

**RESUMEN.** La fasciolosis es una enfermedad parasitaria distribuida mundialmente, causante de múltiples trastornos fisiológicos que pueden comprometer la vida, tanto del hombre como de los animales y de grandes pérdidas económicas que van desde el decomiso de los hígados de los animales infestados hasta disminución del peso, retraso del crecimiento, reducción de la producción de carne, leche o lana, descenso de la resistencia a otras enfermedades, inhibición de la reproducción, abortos e incluso la muerte. Se evaluó la actividad fasciolicida *in vitro* del extracto seco *Portulaca oleracea* L. obtenido a partir de la liofilización del extracto acuoso al 10% de la planta completa y se emplearon varias concentraciones del mismo. Se utilizaron dos modelos experimentales *in vitro*: en placa de Petri frente a *Fasciola* adulta y en placas multipozos frente al miracidio de *Fasciola hepatica*. Se demostró la efectividad del extracto estudiado como fasciolicida, obteniéndose los mejores resultados con el extracto seco al 1% en ambos casos. La actividad antiparasitaria observada fue dependiente de la concentración. Considerando que el extracto evaluado fue obtenido a partir de la liofilización de un extracto acuoso, podría pensarse que existen metabolitos con características polares responsables de la actividad biológica, pudiendo ser los alcaloides, aminoácidos y saponinas presentes en la planta los potenciales antihelmínticos.

**SUMMARY.** "Fasciolicide activity *in vitro* of *Portulaca oleracea* L." The fasciolosis is a parasitic illness distributed worldwide, causing multiple physiologic dysfunctions that can commit the life, so much of the man as of the animals, and big economic losses that go from the seizure of animals infested livers until decrease of weight, delay of growth, reduction of meat production, milk or wool, descent of resistance to other illnesses, inhibition of reproduction, abortions and even death. The *in vitro* fasciolicide activity of the dry extract of *Portulaca oleracea* L. obtained by liophylization from the 10% aqueous extract of the whole plant was evaluated and several concentrations were used. Two *in vitro* experimental models were used: Petri dishes in the case of mature *Fasciola* and multiwells in the case of *Fasciola miracidium*. The fasciolicide effectiveness of the extract was demonstrated and best results were obtained with 1% dry extract in both cases, being the antiparasitic activity dependent on concentration. Taking into account that the evaluated extract was obtained by liophylization of an aqueous extract, we could think that metabolites with polar characteristics, like the alkaloids, amino acids or saponines present in the plant, are responsible for the potential antihelmintic activity.

### INTRODUCCIÓN

Las enfermedades parasitarias constituyen una de las problemáticas fundamentales que presentan la mayoría de los países del Tercer Mundo. Dentro de ellas encontramos a la distomatosis hepática o fasciolosis, como también se le conoce. La misma se encuentra extendida por todo el mundo y es la causante tanto en el hombre como en los animales, de múltiples trastornos fisiológicos y de grandes pérdidas

económicas que van desde el decomiso de los hígados de los animales infestados hasta disminución del peso, retraso del crecimiento, reducción de la producción de carne, leche o lana, descenso de la resistencia a otras enfermedades, inhibición de la reproducción, abortos e incluso la muerte. Todo esto unido a los altos costos derivados del tratamiento antihelmíntico, la convierte en una de las parasitosis más costosas de la ganadería mundial. Por otra parte, desafortu-

**PALABRAS CLAVE:** Actividad fasciolicida, *Fasciola hepática*, *Portulaca oleracea* L., Verdolaga.  
**KEY WORDS:** Fasciolicide activity, *Hepatic fasciola*, *Portulaca oleracea* L., Verdolaga.

\* Autor a quien dirigir la correspondencia. E-mail: mromero@uclv.edu.cu

nadamente, el uso incrementado de compuestos antihelmínticos ha generado resistencia a los tratamientos y favorecido la parasitosis <sup>1</sup>, por lo que se hace indispensable la utilización de medicamentos de origen natural, como una vía de sustituir aquellos medicamentos sintéticos de elevados costos en el mercado.

Este trabajo tiene como objetivo evaluar la actividad fasciolicida *in vitro* de *Portulaca oleracea* L., de la cual existen reportes sobre su uso como antihelmíntico en la medicina tradicional <sup>2-6</sup>.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### **Preparación del extracto seco de la planta**

El extracto seco fue obtenido en el laboratorio de formas farmacéuticas terminadas del Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM), Ciudad Habana, a partir de la liofilización del extracto acuoso al 10% de la planta completa. Se adicionaron 4 ml del mismo en bulbos de 10 ml de capacidad y se liofilizó a una temperatura menor de 30 °C durante 48 h. Este se conservó a 4 °C hasta el momento de su evaluación farmacológica como fasciolicida. En este proceso se utilizaron liofilizadores (Edward High Vacuum LTD, modelo EPG, 5921) de 800 bulbos de capacidad.

### **Preparación de la solución de Hedon Fleig**

Se pesaron 10 mg de glucosa; 7 g de cloruro de sodio, 0,3 g de cloruro de potasio; 0,1 g de cloruro de calcio; 1,5 g de bicarbonato de sodio y 0,3 g de sulfato de magnesio, los cuales se diluyeron en 1 L de agua destilada <sup>7</sup>.

### **Ensayos de actividad antihelmíntica frente a *Fasciola hepatica* in vitro**

#### *Actividad fasciolicida frente a miracidios*

*Obtención de los miracidios.* Los hígados de los animales parasitados (más de un 90%) y aquellos que presentaron lesiones compatibles con la fasciolosis, procedentes del matadero bovino "Chichi Padrón" de la ciudad de Santa Clara, fueron examinados y las vesículas biliares fueron separadas y colocadas en frascos con tapa de rosca de 500 ml para su traslado al laboratorio de parasitología del Centro de Bioactivos Químicos de la Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas <sup>8</sup>. El contenido de la bilis se procesó por el método de sedimentación-decantación, los huevos obtenidos se distribuyeron en erlenmeyers con agua destilada y se incubaron a 28 °C por un tiempo entre 9 y 13 días, tiempo óptimo de eclosión <sup>9</sup>. Luego se procedió a la eclosión de los huevos, lo cual se logró a través

de cambios bruscos de temperatura, frío-calor. Posteriormente se procedió al ensayo *in vitro*.

*Ensayo in vitro.* Se evaluaron 5 concentraciones diferentes de extracto seco de *Portulaca oleracea* L. obtenidas a partir de una solución madre al 2% y se realizaron 8 réplicas de cada una. Se utilizaron placas multipozos (12 x 8 pozos) con pozos de 2 ml de capacidad. Cada uno contenía 50 µl de la solución de miracidios y 50 µl de la solución del extracto seco, para un volumen final de 1 ml y una concentración final de 1%, 0,5%, 0,25%, 0,125% y 0,06%, respectivamente. Se mantuvo un grupo control negativo en agua destilada y la motilidad de los miracidios fue observada a la temperatura del laboratorio, con un microscopio estereoscópico (Olimpus), durante los 2, 30 y 60 min de contacto con el producto a evaluar.

#### *Actividad fasciolicida frente a fasciolas adultas*

*Obtención de las fasciolas adultas.* Se obtuvieron de los hígados procedentes de los animales parasitados, los que fueron inspeccionados para detectar el parásito adulto. Se seleccionaron aquellos que presentaron lesiones compatibles con la fasciolosis y se recolectaron las fasciolas adultas. Estas fueron depositadas en un termo con solución fisiológica Hedong Fleig a 37 °C para su traslado al laboratorio, donde se realizó el ensayo *in vitro* <sup>13,14</sup>.

*Ensayo in vitro.* Se utilizaron placas de Petri de (90 x12 cm). Todos los materiales fueron esterilizados en una estufa a 180 °C, incluyendo el medio de cultivo, durante al menos 2 h y la manipulación se realizó en un flujo laminar (Gelair® Bsb Ga). Se evaluaron 3 concentraciones diferentes, con 5 réplicas cada una, del extracto seco de la planta estudiada (1%, 0,5% y 0,25%), obtenidas mediante la disolución de 1, 0,5 y 0,25 g de extracto seco en 100 ml de solución de Hedong Fleig. En cada placa de Petri se depositaron 40 ml de la solución a ensayar y cuatro fasciolas adultas. Luego se colocaron en una incubadora (Mettler) a 37±1 °C. Las lecturas se realizaron a las 0 y 24 h durante un período de observación de 30 seg para cada fasciola.

Para medir el efecto de los productos se evaluó: a) motilidad en la fasciola viva (móvil y semimóvil) y muerta, considerando el grado de inmovilidad en parálisis flácida o espástica, b) cambios en la coloración de la fasciola y c) color y transparencia del medio de cultivo, así como la presencia de hongos, precipitados y turbidez del mismo. La efectividad se evaluó a través de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de efectividad} = \frac{R \text{ control} - R \text{ tratado}}{R \text{ control}} \times 100$$

donde R control = número de fasciolas móviles en el grupo control y R tratado = número de fasciola móviles en el grupo tratado. Si el porcentaje de efectividad es superior al 90% se considera efectivo el tratamiento.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Ensayo *in vitro* frente a miracidios

En el grupo control los miracidios conservaron sus características de motilidad en la condiciones descritas, durante el tiempo de experimentación<sup>10, 11</sup> (Tabla 1).

Grupos	T (min)		
	2	30	60
I (extracto al 1 %)	1-a	c	c
II (extracto al 0,5 %)	1-a	1-b	c
III (extracto al 0,25 %)	0-a	1-a	c
IV (extracto al 0,12 %)	0-a	1-a	c
V (extracto al 0,06 %)	0-a	1-a	1-b
VI (control)	0-a	0-a	0-a

**Tabla 1.** Resultados de la evaluación fasciolicida del extracto seco frente a miracidios. 0= Movimientos rápidos; 1= Movimientos lentos; a= todos los miracidios vivos; b= algunos miracidios muertos; c= todos los miracidios muertos

Como se puede observar, el producto es activo frente a los miracidios de *Fasciola hepatica* y dicha actividad es dependiente de la concentración del mismo, obteniéndose los mejores resultados con la solución del extracto al 1%. Por otra parte se obtuvo que la mínima concentración del extracto seco que provoca la muerte en 1 hora del 100% de los miracidios es la de 0,125%.

### Ensayo *in vitro* frente a fasciolas adultas

En el transcurso del experimento se observó periódicamente el comportamiento de los vermes en cada uno de los grupos conformados. Al inicio las fasciolas presentaron gran motilidad, requisito indispensable para el desarrollo de la investigación. En el grupo control los parásitos mantuvieron su motilidad durante todo el tiempo de experimentación<sup>10,11</sup>. En los grupos restantes el comportamiento fue diferente al observado en el grupo control, apreciándose cambios en la coloración y en la motilidad de las fasciolas. (Tabla 2).

Grupos	24 horas	
	Nº de fasciolas muertas	% de efectividad
I (extracto al 1 %)	20	100
II (extracto al 0,5 %)	6	30
III (extracto al 0,25 %)	0	0
IV (control)	0	0

**Tabla 2.** Evaluación de la actividad fasciolicida del extracto seco frente a fasciola adulta.

Teniendo en cuenta los porcentajes de efectividad calculados se puede concluir que la solución que resultó efectiva fue la solución al 1%, por ser este valor del 100%. Además se puede observar que la actividad biológica estudiada es dependiente de la concentración utilizada. Esto se corresponde con los resultados obtenidos en el estudio de la actividad fasciolicida frente a miracidios (Tabla 1).

Las pruebas *in vitro* realizadas en esta investigación corroboran la efectividad del extracto acuoso de esta planta y hace pensar que existen metabolitos con características polares responsables de la actividad biológica. Tomando en cuenta la composición química de *Portulaca oleracea* L. y de otras plantas con actividad antihelmíntica reportada, pudieran ser los alcaloides, saponinas y aminoácidos, potenciales antihelmínticos<sup>12,13</sup>. Por otra parte no podemos descartar la posibilidad del efecto biológico que pudieran ejercer los iones K<sup>+</sup> presentes en el extracto acuoso, los cuales pudieran ser los responsables del efecto hiperpolarizante de dicho extracto sobre la placa motriz de los organismos analizados, que conduce a una reducción de los potenciales de acción generados y por tanto una disminución de la liberación del calcio desde su sitio de depósito que es dependiente de la amplitud del potencial de acción<sup>14</sup>.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Martín, R.J (1997) *Vet. J.* **154**: 11-34.
- Habtemariam, S., A.L. Harvey & P.G. Waterman (1993) *J. Ethnopharmacol.* **40**: 195-200.
- De Fed, V., F. Sevitore & C. Ambrosio (1992) *Fitoterapia* **63**: 337-49.
- Reddy, N.S. & K.S. Kulkarni (1986) *Nutr. Rep. Int.* **34**: 954.
- Fuentes, V. (1985) *Plantas Medicinales* **2**: 13-40.
- Perry, L.M. (1980) *Mit. Press.* **1980**: 329-330

7. Dowd, A.J., A.M. Smith, S. McGonigle & J. Dalton (1994) *Eur. J. Biochem.* **223**: 91-8.
8. Olazabal, E., M. Morales, E. Brito, P. Serrano, N. Castañedo & R. Goizueta (1985) *Revista de Producción Animal.* **1**: 57-62.
9. Mititerpak, J., R. Paez, E. Brito & R. Flores (1971) *Rev. Agropecuaria.* **3**: 41-3.
10. Fairweather, I., S.D. Holmes & L.T. Threadgold (1984) *Expl. Parasitol.* **57**: 209-24
11. Ibarra, O.F. & D.C. Jenkins (1984) *Parasitend.* **70**: 655-61.
12. González E., Bravo R., M. García, M. Santos de la Rosa (1974) Contribución al estudio farmacológico (antihelmíntico) de las semillas de Cucurbita máxima Duch y de su principio activo, la Cucurbitina. *Anales de la real Academia de Farmacia* **40**(3): 475-483.
13. Naqvi, S.A., M.S. Khan & S.B. Vohora (1991) *Fitoterapia* **62**: 221-8.
14. Parry, O., J.A. Marks & F. Okwuasaba (1993) *J. Ethnopharmacol.* **40**(3): 184-7.