

Efecto de un extracto seco de boldo sobre el tránsito intestinal oro-cecal en voluntarios sanos

Martín Gotteland, Julio Espinoza M, Bruce Cassels K y Hernán Speisky C.

Effect of a dry boldo extract on oro cecal intestinal transit time in healthy volunteers

Background: Boldo (*Peumus boldus* Molina) is a widely used medicinal plant. However, its physiological effects are not well known. Recent studies in animals showed that certain components of boldo relax smooth muscle and prolong intestinal transit.

Aim: to assess the effects of a dry boldo extract on oro cecal transit time in normal humans.

Subjects and methods: Twelve volunteers received 2.5 g of a dry boldo extract or a placebo (glucose) during two successive periods of four days. On the fourth day, 20 g of lactulose were administered and breath hydrogen was collected every 15 min. Oro cecal transit time was defined as the time in which breath hydrogen increased by 20 ppm over the fasting level.

Results: Oro cecal transit time was larger after dry boldo extract administration, compared to placebo (112.5 ± 15.4 and 87 ± 11.8 min respectively, paired $t < 0.05$).

Conclusions: Dry boldo extract prolongs oro cecal transit time, a possible explanation for its medicinal use.

(Key-words: Plants, medicinal; *Peumus boldus* Molina; Gastrointestinal motility; Clinical trials)



Recibido el 24 octubre 1995. Aceptado versión corregida 27 junio 1995.

Unidad de Gastroenterología, y Unidad de Bioquímica Farmacológica y Lípidos, INTA; y Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Santiago de Chile.

La riqueza de la flora chilena representa un potencial importante de sustancias naturales con acciones farmacológicas. En la mayoría de los casos, su empleo en medicina tradicional ha sido empírico y las bases fisiológicas y bioquímicas que podrían explicar los efectos terapéuticos atribuidos a su uso son aún desconocidas. En la presente investigación se estudió una de las plantas medicinales más frecuentemente utilizadas en Chile, el boldo (*Peumus boldus Molina*)¹. Por décadas, preparaciones en base a boldo, ya sea en forma de infusión, tinturas o extractos hidro-alcohólicos, han sido ampliamente empleadas en medicina popular^{1,2}. Sin embargo, más allá de su uso meramente vernacular, tales preparaciones han sido descritas en varios textos oficiales de Farmacia y Farmacognosia, incluyendo la Farmacopea Francesa (8^{va} y 9^{na} edición), el Martindale Extra-Farmacopea (25^a edición), y las Farmacopeas oficiales de Alemania, Brasil, Chile, España, Portugal y Suiza^{3,4}. Como resultado de su reconocida acción colerética y colagoga^{5,6}, la boldina y/o extractos de boldo han sido incluidos como componentes en la formulación de más de 60 preparaciones farmacéuticas registradas en varios países del mundo^{3,4}. En forma adicional, nuestros estudios recientemente demostraron que la boldina y algunas moléculas (aporfínicas) constituyentes del boldo exhiben una fuerte actividad antioxidante, lo que representa una nueva propiedad de creciente interés farmacológico para preparados en base a esta planta^{7,8}.

Por otra parte, se ha descrito en distintos modelos animales, tanto *in vivo* como *in vitro*, que algunos constituyentes (de tipo flavonoides y aporfínicos) del boldo inhiben el tono⁹⁻¹¹ y/o la motilidad¹²⁻¹⁴ intestinal (inhibe la contracción muscular espontánea e inducida por acetilcolina). Sin embargo, estas observaciones experimentales no han sido aún confirmadas en seres humanos. El presente estudio tiene por objeto investigar el efecto de la ingestión de un extracto seco de boldo sobre el tránsito intestinal oro-cecal en voluntarios asintomáticos, usando el método no-invasivo de la medición de la concentración de hidrógeno en el aire espirado¹⁵.

MATERIAL Y METODO

Preparación del extracto seco de boldo (ESB). El extracto fue preparado por extracción hidro-alcohólica a partir de las hojas de boldo, según descrito por Lanhers et al¹⁶. Las hojas fueron secadas a temperatura ambiente, molidas y luego maceradas con etanol 70% (en una relación peso/volumen 1:2,4) durante 6 h. Al cabo de ese tiempo, el líquido fue retirado por filtración y el material sólido se volvió a macerar de la misma manera, repitiendo esta operación seis veces. El extracto hidroalcohólico se concentró hasta consistencia pastosa, se lavó con seis porciones sucesivas de hexano, cada una de un volumen igual a la mitad del volumen del concentrado, desechándose los lavados hexánicos (remoción de componentes más apolares). El extracto hidroalcohólico concentrado y lavado se concentró a sequedad y se molió. El peso del extracto obtenido de esta manera corresponde aproximadamente al 25% del peso de las hojas utilizadas. El ESB presenta 0,4% de alcaloides totales (todos aporfínicos), de los cuales la boldina da cuenta de un 0,12%.

Voluntarios. Se estudiaron 12 voluntarios asintomáticos (6 varones, 6 mujeres; edad promedio: 30,8 años [rango: 19-42]). Ninguno de ellos había tomado antibióticos, laxantes, o había usado enemas durante los dos meses previos al estudio. El protocolo fue aceptado por el Comité de Ética del INTA; y cada voluntario dio su consentimiento escrito después de haber recibido información completa sobre los objetivos del estudio y el método utilizado.

Protocolo. Incluyó 2 períodos consecutivos de 4 días cada uno, durante los cuales los sujetos sucesivamente ingirieron, al azar y sin conocimiento previo, ESB o igual cantidad de glucosa (placebo). Cada período fue separado por un intervalo de 10 días. Los voluntarios tomaron diariamente ESB o placebo en forma de cápsulas de gelatina, a razón de 2,5 g a lo largo del día (aproximadamente, cada 4 h), durante los tres primeros días de cada período. El ESB fue administrado en forma crónica durante los 3 días previos a la administración de lactulosa dado que, por una parte, no se conocen las posibles

interacciones de ambos preparados en el tubo digestivo, y por la otra, se desconoce la farmacocinética de los constituyentes activos del ESB. Cada voluntario anotó las eventuales molestias que presentó (dolor, distensión abdominal, diarrea, flatulencia, ruidos intestinales, insomnio, etc) y su intensidad respectiva (fuerte, mediana, leve). En la mañana del cuarto día, el tiempo de tránsito oro-cecal (TTOC) fue evaluado, previo ayuno de una noche, mediante la prueba de lactulosa usando la medición de hidrógeno en el aire espirado. De esta manera, para cada individuo la medición del TTOC fue realizada entre 12 y 14 h después de la última dosis de ESB o placebo. Durante el estudio, los voluntarios continuaron con sus dietas regulares. Durante la cena previa al día del test, los voluntarios se abstuvieron de ingerir todo alimento susceptible de fermentar a nivel colónico, y que pudiesen interferir la medición de hidrógeno.

Prueba de medición de hidrógeno en el aire espirado y determinación del TTOC. Después de haber ingerido una solución con 20 g de lactulosa en 150 ml de agua, los voluntarios recogieron en jeringas de 60 ml, muestras de aire correspondiente al fin de la espiración (aire alveolar) a intervalos de 15 min y durante 4 h. Previo a la ingestión de lactulosa, también tomaron dos muestras de aire a los tiempos -15 y 0, con el fin de determinar los valores basales de hidrógeno. La lactulosa es un disacárido no hidrolizable por las enzimas del intestino delgado; transita hasta el colon donde la flora microbiana lo degrada, liberando entre otros hidrógeno. Este es absorbido por la mucosa colónica, pasa a la circulación, y es excretado a nivel pulmonar. El TTOC es definido como el tiempo al cual la concentración de hidrógeno en una muestra de aire espirado es igual o superior a 20 partes por millón (ppm) por encima de su valor basal, lo que refleja la llegada de la lactulosa a nivel colónico y su subsecuente degradación (pic colónico). Las concentraciones de hidrógeno en las muestras de aire fueron determinadas usando un analizador de hidrógeno (Quintron modelo 12i Microlizer) previamente calibrado con un estándar conteniendo 107 ppm de hidrógeno. Los voluntarios permanecieron en reposo sin comer ni fumar durante la duración de la prueba.

Análisis estadístico. Se utilizó la prueba de t pareado y la prueba no paramétrica.

RESULTADOS

Dos sujetos (1 varón, 1 mujer) no presentaron aumento de la excreción de hidrógeno durante las 4 h del test y fueron considerados como no-productores de hidrógeno; en consecuencia, sus resultados no fueron integrados al análisis de datos. La Figura 1 muestra un ejemplo de excreción de hidrógeno en un sujeto en período placebo y en período ESB. En este ejemplo el TTOC es de 60 y 135 min para cada período, respectivamente.

Las concentraciones basales de hidrógeno determinadas antes de la ingestión de lactulosa no varían significativamente entre los dos períodos ($9,5 \pm 2,2$ ppm vs $11,1 \pm 1,8$ ppm para los períodos placebo y ESB, respectivamente). La Figura 2 compara los cambios de TTOC para cada sujeto durante los dos períodos. El TTOC fue de $87,0 \pm 11,8$ min (promedio \pm SEM) para el período placebo, y $112,5 \pm 15,4$ min para el período ESB. El TTOC fue significativamente más largo con el ESB que con el placebo ($p < 0,05$; t pareado), con una diferencia promedio de $25,5 \pm 9,7$ min (SEM) [rango, -15 hasta +75 min]. El sexo de los sujetos no tuvo influencia sobre el TTOC. No hubo diferencia en los síntomas presentados (flatulencia leve) por los sujetos en cada período.

DISCUSION

En este estudio se evaluó, en voluntarios, el efecto de la ingestión de boldo (en forma de extracto seco) sobre el tiempo de tránsito intestinal oro-cecal. El método usado tiene la ventaja de no ser invasivo, puesto que el sujeto en estudio solamente tiene que expirar en jeringas a fin de recoger una muestra de aire alveolar luego de haber ingerido una dosis de lactulosa. Este mismo principio también se usa para determinar una eventual contaminación bacteriana del intestino delgado alto¹⁷, y para evaluar una condición de intolerancia a azúcares¹⁸. Cabe destacar que este método mide el tiempo de tránsito oro-cecal; sin embargo, no permite medir el tránsito total, es decir, intestinal más colónico.

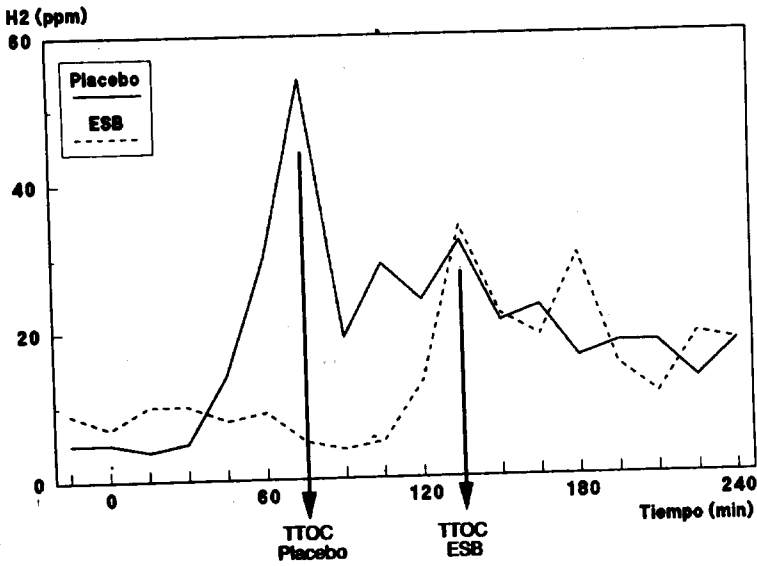


FIGURA 1. Ejemplo de curva de excreción de hidrógeno en el aire espirado de un voluntario, en período placebo y en período ESB. El TTOC está definido como un aumento de la concentración de hidrógeno >20 ppm por encima de su valor basal.

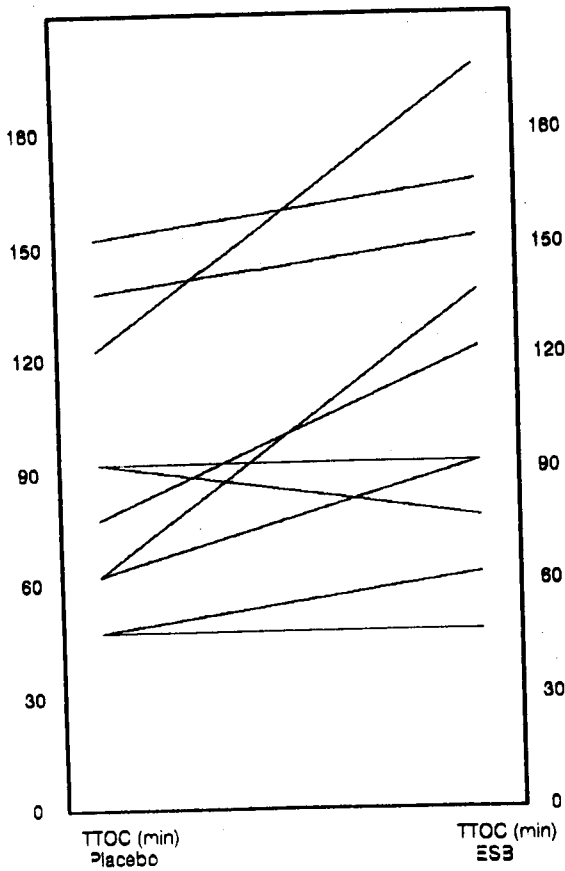


FIGURA 2. Tiempo de tránsito oro-cecal de los sujetos que recibieron placebo o ESB.

Los resultados obtenidos muestran que el boldo prolonga el tiempo de tránsito orocecal, confirmando así en seres humanos lo observado previamente en varios modelos animales. Aunque en promedio se observa en la población estudiada un claro efecto inhibitor del ESB sobre el TTOC, cabe mencionar que en 2 de los voluntarios no se observó dicho cambio, mientras en 1 de ellos el TTOC mostró una leve (15 min) disminución. La explicación para tales observaciones no es evidente; sin embargo, es concebible que en alguno de estos sujetos, el pic normal de aparición de hidrógeno haya precedido ligeramente el momento de muestreo y, por lo tanto, un diseño experimental con toma de muestras más frecuente (ej, cada 5 min) posiblemente hubiese permitido la visualización del efecto de ESB sobre el TTOC.

En modelos animales *in vivo* e *in vitro*, algunos constituyentes químicos presentes en las hojas del boldo¹, tales como la boldina, o/y varios tipos de flavonoides podrían originar el efecto sobre el tránsito, que se observa también en nuestro estudio. La boldina inhibe las contracciones peristálticas del intestino delgado en el gato anestesiado⁹, alarga el tiempo de tránsito intestinal en ratones¹⁰, y tiene un efecto relajador sobre el músculo liso del íleon de rata, inhibiendo la contracción tanto espontánea como aquella inducida por acetilcolina¹². Los efectos de la boldina sobre la actividad motora intestinal también han sido observados para la quercetina, una aglicona de flavonoides del boldo, así como para otros flavonoides^{11,13,14}. Mientras la quercetina prolonga el tránsito intestinal en ratones¹¹, otros flavonoides inhiben la amplitud de las contracciones y reducen el tono del íleon aislado de cobayo^{13,14}, y, en preparaciones de intestino de cobayo aislado, antagonizan las contracciones inducidas por agentes tales como la prostaglandina E2 y la acetilcolina. Acciones similares podrían ocurrir en el tracto intestinal humano, explicando así el fenómeno observado en este estudio. En este trabajo no se determinó la concentración de flavonoides presentes en el ESB; sin embargo, dado que el extracto seco fue obtenido mediante sucesivas extracciones hidro-alcohólicas, es altamente probable que el contenido original de flavonoides presentes en el boldo se encuentre cuantitativamente recuperado en la fracción flavó-

nica del ESB, pudiendo estos constituyentes contribuir en forma significativa a la prolongación del tránsito orocecal observado en voluntarios que ingirieron ESB.

El efecto del ESB sobre el tránsito intestinal, junto a la acción colerética de la boldina podría contribuir a explicar el amplio uso popular de las infusiones y de otras preparaciones galénicas en base a boldo como co-adyuvante digestivo.

REFERENCIAS

1. SPEISKY H, CASSELS B. Boldo and boldine: An emerging case of natural drug development. *Pharmacol Res* 1994; 29: 1-12.
2. REICHE K. *Los productos vegetales indígenas de Chile*. Imprenta Cervantes: Santiago de Chile. 1901.
3. GENEST K, HUGHES DW. Natural products in Canadian pharmaceuticals. II Peumus boldus. *Can J Pharm Sci* 1968; 3: 84-90.
4. BEZANGER-BEAUQUESNE C. Les plantes dans la thérapeutique moderne. *Maloine*: Paris. 1975.
5. KREITMAIR H. Pharmakologische Wirkung des Alkaloids aus Peumus boldus Molina. *Die Pharmazie* 1952; 7: 507-11.
6. DELSO-JIMENO JL. Coleréticos y colagogos, un estudio farmacológico de la hoja de boldo. *Anales Inst Farmacol España* 1956; 5: 395-441.
7. SPEISKY H, CASSELS BK, LISS EA, VIDELA LA. Antioxidant properties of the alkaloid boldine in systems undergoing lipid peroxidation and enzyme inactivation. *Biochem Pharmacol* 1991; 41: 1575-81.
8. CEDERBAUM AI, KUKIELKA E, SPEISKY H. Inhibition of rat liver microsomal lipid peroxidation by boldine. *Biochem Pharmacol* 1992; 44: 1765-72.
9. DELOURME J. Action intestinale de la boldine. *Compt Rend Hebd Acad Sci* 1949; 229: 953-55.
10. GLEYSSES E. Le Boldo, Peumus boldus Molina: Etude botanique, chimique, pharmacologique. Thèse de Sciences Pharmaceutiques et Biologiques. *Université Paris XI*. 1986.
11. MELI R, AUTORE G, DI CARLO G, CAPASSO F. Inhibitory action of quercetin on intestinal transit in mice. *Phytother Res* 1990; 4: 201-02.
12. SPEISKY H, SQUELLA JA, NUÑEZ-VERGARA LJ. Activity of boldine on rat ileum. *Planta Med* 1991; 57: 519-22.

13. ABDALLA S, ABU ZARGA MH. Effects of cirsimaritin, a flavone isolated from *Artemisia judaica*, on isolated guinea pig ileum. *Planta Med* 1987; 53: 322-24.
14. CAPASSO A, PINTO A, MASCOLO N, AUTORE G, CAPASSO F. Reduction of agonist-induced contractions of guinea-pig isolated ileum by flavonoids. *Phytother Res* 1991; 5: 85-87.
15. BOND JH, LEVITT MD, PRENTISS R. Investigation of small bowel transit time utilizing pulmonary hydrogen (H_2) measurements. *J Lab Clin Med* 1975; 85: 546-55.
16. LANHERS MC, JOYEUX M, SOULIMANI R ET AL. Hepatoprotective and anti-inflammatory effects of a traditional medicinal plant of Chile, *Peumus boldus*. *Planta Med* 1991, 57: 110-15.
17. ESPINOZA J, BRUNSER O, ARAYA M. Colonización bacteriana del intestino delgado alto en escolares de nivel socioeconómico alto y bajo. *Rev Chil Ped* 1993; 64: 364-70.
18. FLOURIÉ B, FLORENT C, RAMBAUD JC. Les tests respiratoires en gastroentérologie. In: *Gastroentérologie*, Bernier JJ, Flammarion Ed. 1956: 694-702.

Reprints requests:

Dr Martín Gotteland
Unidad de Gastroenterología
INTA
Universidad de Chile
Santiago de Chile
