

Identificación de la actividad hipotensora del extracto etanólico de *Solanum tuberosum* en ratas

Mario F. Guerrero*

Rosalía Carrón**

María L. Martín**

Resumen

Se evaluaron los efectos hipotensor y vasodilatador del extracto etanólico de la corteza de *Solanum tuberosum* en ratas anestesiadas y en anillos vasculares de aorta. La administración del extracto, vía intravenosa (5-15 mg/kg), produjo una disminución de la presión arterial media en función de la dosis, tanto en ratas espontáneamente hipertensas (SHR) como en ratas Wistar. Adicionalmente el extracto provocó una respuesta vasodilatadora (CI₅₀: 3.9E-4 g/ml) en anillos aislados de aorta obtenidos de ratas Wistar, previamente contraídos con KCl 80 mM

Palabras clave: *Solanum tuberosum* – SHR – hipotensor – vasodilatador – anillos de aorta.

Summary

Identification of hypotensive activity of the ethanolic extract from *Solanum tuberosum* in rats

Hypotensive and vasorelaxant effects of the ethanolic extract of *Solanum tuberosum*, in anaesthetized rats and isolated aorta rings were investigated. Intravenous injections of the bark extract (5-15 mg/kg) produced a dose-dependent decreasing in mean arterial pressure and heart rate in spontaneously hypertensive rats (SHR) as well as Wistar rats. Furthermore, the bark extract has produced a vasorelaxant response (in a concentration

Recibido para evaluación: 17 de Marzo de 2002

Aceptado para publicación: 31 de Mayo de 2003

* Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, A.A. 14490, Bogotá, Colombia. E-mail: mguerrer@ciencias.unal.edu.co

** Laboratorio de Farmacognosia y Farmacodinamia, Departamento de Farmacología y Fisiología, Facultad de Farmacia, Universidad de Salamanca, Salamanca, España.

dependent manner, IC_{50} : $3.9E-4$ g/ml), in intact Wistar rat aortic rings, previously contracted by KCl.

Key words: *Solanum tuberosum* – SHR – hypotensor – vasodilatator – aorta rings.

Introducción

Según el uso tradicional en Colombia, la infusión obtenida de la corteza de *Solanum tuberosum* (N.V. Papa) se ha utilizado con fines antihipertensivos (1, 2). Algunas plantas del género *solanum* tales como *Solanum sisymbriifolium* y *Solanum marginatum* han mostrado efectos hipotensores en ratas (3, 4). Sin embargo los efectos de *Solanum tuberosum*, tanto sobre la presión arterial como sobre el tono vascular no han sido suficientemente estudiados hasta la fecha. En trabajos anteriores hemos estudiado los efectos hipotensores y vasodilatadores de: *Calea glomerata* Klatt, *Croton schiedeanus* Schlecht, *Curatella americana* L., *Lipia alba* y *Lupinus amandus* (5, 6), también utilizados tradicionalmente en nuestro medio con esos fines. En este trabajo se examinan las respuestas inducidas tras la administración intravenosa del extracto etanólico de esta planta en ratas hipertensas (SHR) y normotensas (Wistar) así como las ejercidas sobre el tono vascular en anillos aislados de aorta.

Materiales y métodos

Material vegetal

Se recolectaron aproximadamente 8 kg de tubérculos de *Solanum tuberosum* (N.V. Papa, subespecie: *andigenum*, variedad tuquerreña) en un supermercado de cadena, material que se clasificó por comparación. La corteza se separó y sometió a calentamiento en un horno de aire circulante a $50^{\circ}C$ durante 48 horas. El material seco obtenido se pasó a trituración en un molino hasta obtener un polvo que se maceró en etanol, 96% durante 72 horas. Posteriormente

se filtró, se concentró en un evaporador rotatorio y se liofilizó. En el momento del experimento el extracto se preparó en solución salina.

Registros de presión arterial y frecuencia cardiaca

El Bioterio Departamental de la Universidad de Salamanca (P.A.E.-SA001) suministró ratas macho genéticamente hipertensas (SHR) y ratas Wistar, con pesos entre 250 y 350 g. Los animales se anestesiaron vía intraperitoneal con pentobarbital sódico (60 mg/kg) y diazepam (5 mg/kg). La tráquea del animal se expuso y canuló para facilitar la respiración espontánea. Posteriormente se canularon la vena yugular derecha y la arteria carótida izquierda (catéteres PE-50) para la administración de las sustancias y el registro de presión arterial respectivamente.

La presión arterial se midió a través de un transductor LETICA conectado a un amplificador PRS 205, acoplado a un polígrafo (Polygraph 4000). La frecuencia cardiaca se obtuvo automáticamente mediante un tacómetro (CAR 1000) conectado al amplificador de presión. La presión arterial media (PAM) se obtuvo según la fórmula: $PAM = \text{diastólica} + (\text{sistólica} - \text{diastólica}) / 3$.

Una vez obtenida una señal estable de presión arterial y frecuencia cardiaca, al animal se le suministraron dosis progresivamente crecientes de: 5, 10, y 15 mg/kg i.v. del extracto en volúmenes de 0.01 ml/g de peso, cada diez minutos. Experimentos paralelos se efectuaron con solución salina normal como control.

Todos los procedimientos se efectuaron conforme a las especificaciones concernientes a la protección del animal de laboratorio de la Comunidad Económica Europea (EEC, 1986).

Registros de relajación vascular en anillos aislados de aorta

Ratas Wistar macho, de 250-300 g se sacrificaron por decapitación. La arteria aorta torácica descendente se disecó cuidadosamente, y colocó en una caja de petri perfundida con solución de Krebs oxigenada, con la siguiente composición (mM): NaCl 118.0, KCl 4.75, CaCl₂ 1.8, MgSO₄ 1.2, KH₂PO₄ 1.2, NaHCO₃ 25, glucosa 11 y ácido ascórbico 0.1.

La arteria se seccionó en anillos de 4-6 mm de longitud que se colocaron en cámaras de Allhin para órgano aislado, gasificadas con una mezcla de O₂ 95% y CO₂ 5% y que contenían 5 ml de solución de Krebs cada una (pH: 7.4).

Los anillos se fijaron por su superficie interna mediante dos finos alambres de acero inoxidable, uno adherido a la cámara y el otro anclado a un transductor isométrico Harvard UF-1. La señal de contracción generada se examinó a través de un sistema de computación MacLab de 8 canales. Los anillos fueron sometidos a una tensión basal de 2 g. El período de estabilización fue 60-90 minutos, tiempo durante el cual la solución de Krebs se cambió cada 15 minutos.

Una vez estabilizada la tensión vascular, se adicionó al baño KCl 80 mM hasta alcanzar una meseta de contracción. Entonces se adicionó el extracto etanólico, en dosis acumulativas: 10E-6, 10E-5, 3x10E-5, 10E-4, 3x10E-4, 10E-3 g/ml, o solución salina normal (SSN) como control, en intervalos de 20 minutos.

Fármacos y soluciones

Se utilizaron los siguientes productos: NaCl, CaCl₂, NaHPO₄, NaHCO₃, glucosa (Panreac), KCl, MgCl₂, KH₂PO₄, MgSO₄ (Probus); pento-barbital, (SIGMA), diazepam, (Almirall Prodes-farma) y etanol.

Análisis de datos y estadística

Se construyeron curvas dosis respuesta de los valores de presión arterial y frecuencia cardiaca, expresados en términos de descensos máximos, en mm Hg y ppm (pulsos por minuto) con respecto al nivel basal de cada señal.

Los valores de contracción vascular de los anillos aórticos se expresaron en términos de porcentaje con respecto a la magnitud basal de contracción tras la administración de KCl 80 mM. La concentración inhibitoria 50 (CI₅₀) se obtuvo del análisis de regresión sigmoideal de la curva dosis respuesta.

Todos los resultados se expresan como promedio el error estándar de la media (esm). El análisis estadístico de las diferencias de presión arterial, frecuencia cardiaca y contracción vascular se efectuó mediante la prueba de *t* de student de experimentos no pareados, asumiendo una $p < 0.05$. Para ello se utilizaron, los programas de computador MS Excel® 97 y SPSS 7.5.

Resultados

Efectos de *Solanum tuberosum* sobre la presión arterial media y la frecuencia cardiaca

En ratas espontáneamente hipertensas anestesiadas los valores de PAM y FC fueron de 129 ± 6 mm Hg y 335 ± 7 ppm respectivamente ($n = 17$). En ratas normotensas Wistar anestesiadas

tales valores fueron de 104 ± 4 mm Hg y 352 ± 13 ppm ($n = 13$). La administración intravenosa del extracto de corteza de *S. Tuberosum* provocó disminución de la PAM en función de la dosis (Figuras 1 y 2). Los efectos fueron significativos a partir de 5 mg/kg, tanto en ratas SHR como en ratas Wistar. Los valores basales de PAM se recuperaron completamente dentro de los primeros 10 minutos.

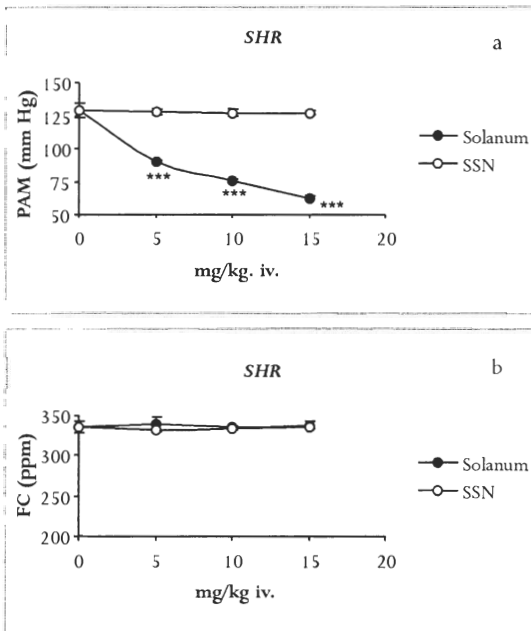


Figura 1. Efecto de la administración del extracto etanólico de la corteza de *Solanum tuberosum* sobre la presión arterial media (a) y la frecuencia cardíaca (b) en ratas espontáneamente hipertensas anestesiadas ($n = 17$, *** $p < 0.001$).

Efectos de *Solanum tuberosum* en anillos aislados de aorta

La estimulación de los anillos aórticos con KCl 80 mM indujo una contracción sostenida (3983 ± 293 mg, $n = 16$). La adición acumulativa del extracto provocó relajación con las mayores concentraciones (Figura 3). La concentración inhibitoria 50 (CI₅₀ mg/ml) fue de 0.39 mg/ml (IC: 0.31 - 0.48 mg/ml).

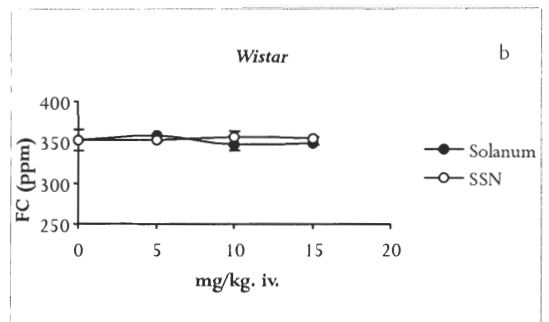
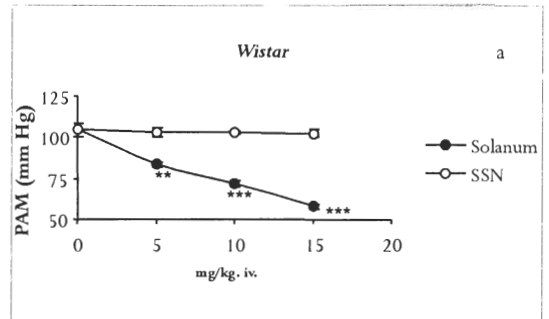


Figura 2. Efecto de la administración del extracto etanólico de la corteza de *Solanum tuberosum* sobre la presión arterial media (1) y la frecuencia cardíaca (b) en ratas Wistar anestesiadas ($n = 13$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

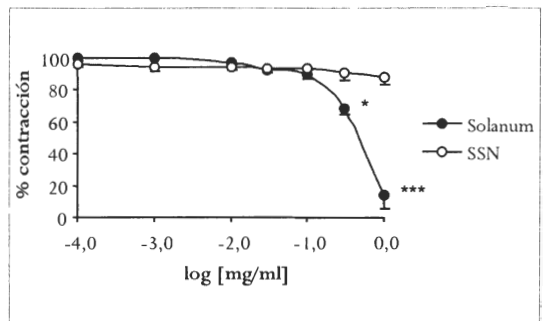


Figura 3. Efecto de la administración del extracto de *Solanum tuberosum* en anillos de ratas Wistar precontraídos con KCl 80 mM. ($N = 16$, * $p < 0.05$; *** $p < 0.001$).

Discusión

Tanto en ratas anestesiadas hipertensas (SHR) como en ratas Wistar normotensas, el extracto de la corteza de *S. tuberosum* provocó una disminución apreciable de la PAM.

En estudios previos hemos documentado los efectos hipotensores del extracto de *Croton schiedeanus* en ratas así como sus principios activos y mecanismos de acción (5-9). Es interesante observar que con el extracto de la corteza de *S. tuberosum* se observan efectos significativos a partir de dosis menores que los observados con *Croton schiedeanus* (5 mg/kg vs 20 mg/kg). Esto está a favor de una mayor potencia en la actividad hipotensora de *S. tuberosum*.

También es de interés considerar los efectos de *S. tuberosum* sobre la FC. El objetivo de la farmacoterapia actual de la hipertensión esta dirigido a encontrar sustancias capaces, no solo de disminuir la presión arterial, sino de proteger al miocardio de los efectos potencialmente lesivos que un incremento de la FC pueda provocar a corto, mediano y largo plazo y que están íntimamente vinculados con eventos postisquémicos y el fenómeno de remodelado cardiovascular (10-11). Llama la atención que el extracto no indujera incrementos significativos compensatorios de la FC, pese a la disminución apreciable de la PAM. Es decir, aparentemente *S. tuberosum* ejercería algún grado de efecto cardioprotector.

Por otra parte el extracto de *S. tuberosum* provocó vasodilatación en anillos de aorta precontraídos con KCl, si bien con las concentraciones mayores. Está documentado que KCl genera contracción de la musculatura lisa vascular de la aorta por activación de canales de Ca^{++} dependientes de voltaje (12). De ahí la utilidad de protocolos con anillos vasculares precontraídos con K^+ para detectar posibles sustancias con actividad antagonistas de canales de Ca^{++} (13).

Los estudios realizados con *S. tuberosum* sobre anillos aórticos precontraídos con KCl sugieren que, si bien no se descartan mecanismos de interacción con canales de Ca^{++} , la hipotensión inducida en ratas hipertensas y

normotensas parecería estar más relacionada con interacciones a otro nivel molecular. Aunque ciertamente hay que considerar mecanismo de vasodilatación directa ajenos al bloqueo de canales de calcio, el análisis de los resultados *in vivo* e *in vitro* de este estudio hace necesario indagar posibles efectos directos que *S. tuberosum* pueda ejercer sobre el miocardio. Se trataría de mecanismos cardioprotectores, de modo similar al que ejercen grupos de fármacos como inhibidores de la ECA y bloqueadores del receptor β , entre otros (10,14).

La preparación de ratas anestesiadas, en particular de ratas genéticamente hipertensas, es sumamente útil en la selección inicial de sustancias potencialmente antihipertensivas (15). Grupos de fármacos ampliamente utilizados hoy en día en clínica han mostrado actividad en esta sencilla preparación. No obstante, dado que la mayoría de fármacos antihipertensivos ejercen sus efectos tras la administración sostenida de cuando menos tres semanas, es necesario que sustancias potencialmente interesantes, sean probadas en un modelo como el de rata espontáneamente hipertensa, tras la administración sostenida de la sustancia, preferentemente por vía oral.

Los constituyentes responsables de la actividad hipotensora de *S. tuberosum* aún no han sido dilucidados. Entre ellos deben considerarse compuestos de tipo alcaloide tales como α -chacónina y α -solanina, catecolaminas y compuestos con actividad muscarínica (16-18).

Conclusión

En conclusión, nuestro estudio muestra que el extracto etanólico obtenido de la corteza de *S. tuberosum* induce efectos hipotensores a bajas dosis en ratas anestesiadas, sin taquicardia refleja asociada y efectos vasodilatadores discretos

en anillos precontraídos con KCl. Aunque una posible interacción de sus principios activos con canales de Ca^{++} dependientes de voltaje no se descarta, es necesario indagar mecanismos farmacodinámicos más plausibles. Se requieren trabajos adicionales con el fin de caracterizar química y farmacológicamente los principios bioactivos de *S tuberosum*.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Proyecto "Búsqueda de Principios Bioactivos en Plantas Medicinales Colombianas" dirigido por el Dr. Roberto Pinzón, del Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia; a COLCIENCIAS, al Convenio Andrés Bello, a la División de Investigación, Sede Bogotá, UN; a la International Foundation for Sciences (IFS), a la Facultad de Farmacia, Universidad de Salamanca, España.

Bibliografía

1. H. García, "Flora Medicinal de Colombia", Santafé de Bogotá, Colombia, 1975, Vol. II, pp. 87-91.
2. J. Correa y H. Bernal, "Especies Vegetales Promisorias de los Países del Convenio Andrés Bello", Santafé de Bogotá, Colombia, 1992, T. VII, pp. 314-322.
3. D. A. Ibarrola, M. H. Ibarrola, C. Vera, Y. Montalbetti y E. A. Ferro, Hypotensive effect of crude root extract of *Solanum sisymbriifolium* (Solanaceae) in normo- and hypertensive rats, *J. Ethnopharmacol.*, **54**, 7 (1996).
4. H. Vidrio, B. Soto, F. García y S. Méndez, Hypotensive activity of extracts of *Solanum marginatum* in the rat, *Planta Med.*, **54**, 111 (1988).
5. M. F. Guerrero, R. Carrón, M. L. Martín, L. San Román y M.T. Reguero, Antihypertensive and vaso relaxant effects of aqueous extract from *Croton schiedeanus* Schlecht in rats, *J. Ethnopharmacol.*, **75**, 33 (2001).
6. M. F. Guerrero, P. Puebla, R. Carrón, M. L. Martín, L. Arteaga y L. San Román, Assessment of the antihypertensive and vasodilator effects of ethanolic extracts of some Colombian medicinal plants, *J. Ethnopharmacol.*, **80**, 37 (2002).
7. M. F. Guerrero, P. Puebla, M. L. Martín, R. Carrón, L. San Román y M. T. Reguero, Inhibitory effect of N(G)-nitro-L-arginine methyl ester on the anti-adrenergic response elicited by Ayanin in the pithed rat, *Planta Med.*, **68**, 322 (2002).
8. M. F. Guerrero, P. Puebla, R. Carrón, M. L. Martín y L. San Román, Quercetin 3,7-dimethyl ether, a vasorelaxant flavonoid isolated from *Croton schiedeanus* Schlecht, *J. Pharm. Pharmacol.*, **54**, 1373 (2002).
9. P. Puebla, J. L. López, M. F. Guerrero, R. Carrón, M. L. Martín, L. San Román, A San Feliciano, Neo-clerodane diterpenoids from *Croton schiedeanus*, *Phytochemistry*, **62**, 551 (2003).
10. P. W. de Leeuw y A. A. Kroon, Hypertension and the Development of Heart Failure, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **32** (supp.1), S9 (2001).
11. J. Yeh, S. Liou, J. Liang, Y. Huang, L. Chiang, J. Wu, Y. Lin y I. Chen, Vanidipinedilol: a vanilloid-based β -adrenoceptor blocker displaying calcium entry blocking and vasorelaxant activities, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **35**, 51 (2000).
12. R. P. Hof, H. J. Vuorela, Assessing calcium antagonism on vascular smooth muscle:

- comparison of three methods, *J. Pharmacol. Methods*, **9**, 41 (1983).
13. J. F. Marriot, A comparison of the effects of the calcium entry blockers, verapamil, diltiazem and flunarizine against contractions of the rat isolated aorta and portal vein, *Br. J. Pharmacol.*, **95**, 145 (1988).
 14. R. S. Khattar, R. Senior, P. Soman, R. van der Does y A. Lahiri, Regression of left ventricular remodeling in chronic heart failure: Comparative and combined effects of captopril and carvedilol, *Am. Heart J.*, **142**, 704 (2001).
 15. P. Champeroux, Nicardipine decreases blood pressure and heart rate at nucleus tractus solitarii of spontaneously hypertensive rats, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **14**, 694 (1989).
 16. B. Simonovska y U. Vovk, High-performance thin-layer chromatographic determination of potato glycoalkaloids, *J. Chromatogr. A*, **15**, 219 (2000).
 17. J. Szopa, G. Wilczynski, O. Fiehn, A. Wenczel y L. Willmitzer, Identification and quantification of catecholamines in potato plants (*Solanum tuberosum*) by GC-MS, *Phytochemistry*, **58**, 315 (2001).
 18. A. C. de Melo, C. J. Pereg y M. C. Rubio, Acetylcholine-like activity in the fruit of the black nightshade (Solanaceae), *Acta Physiol. Lat. Am.*, **28**, 19 (1978).