

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
INSTITUTO DE FARMACOLOGÍA

**EFFECTO DE ALCALOIDES TIPO TROPANO PRESENTES EN *Schizanthus grahamii*
SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL, EN RATAS NORMOTENSAS E HIPERTENSAS.**

Memoria de Título presentada como parte
de los requisitos para optar al **TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO.**

MARCELA ODET HERRERA NEIRA

VALDIVIA – CHILE

2003

PROFESOR PATROCINANTE Dr. Marcos Moreira E.

PROFESOR COPATROCINANTE Dr. Frédérick Ahumada M.

PROFESOR COLABORADOR Dr. Orlando Muñoz M.

PROFESORES CALIFICADORES Dra. Lucía Vits D.

Dr. Ricardo Castillo D.

FECHA DE APROBACIÓN: 17 de septiembre de 2003.

ÍNDICE

| | Pág. |
|-----------------------|------|
| 1. RESUMEN | 1 |
| 2. SUMMARY | 2 |
| 3. INTRODUCCIÓN | 3 |
| 4. MATERIAL Y MÉTODOS | 11 |
| 5. RESULTADOS | 15 |
| 6. DISCUSIÓN | 23 |
| 7. CONCLUSIONES | 28 |
| 8. BIBLIOGRAFÍA | 29 |
| 9. ANEXOS | 33 |

“EFECTO DE ALCALOIDES TIPO TROPANO PRESENTES EN *Schizanthus grahamii* SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL, EN RATAS NORMOTENSAS E HIPERTENSAS”.

1. RESUMEN

Se evaluó el posible efecto de alcaloides tipo tropano extraídos de *Schizanthus grahamii* sobre la presión arterial sistólica (PAS), en ratas normotensas e hipertensas.

Se utilizaron 20 ratas hembras cepa Sprague-Dawley de entre 200 a 250 g de peso, distribuidas al azar en 2 series de 10 ratas cada una: Serie 1: normotensa y serie 2: hipertensa.

El trabajo experimental tuvo una duración de 17 días y se dividió en 3 periodos:

Periodo 1: Inducción de hipertensión (días 1 a 7), en el cual se administró diariamente solución isotónica de NaCl al 0,9% a la serie 1 y solución de L-nitro-arginina-metil éster (L-NAME) en dosis de 25 mg/kg a la serie 2, (administración que se mantuvo hasta el día 17). La PAS se midió los días 1, 3, 5 y 7, considerándose hipertensas las ratas que presentaron valores iguales o mayores a 150 mm Hg; **Periodo 2:** Valoración del efecto sobre presión arterial (días 8 a 14), durante el cual ambas series fueron tratadas con alcaloides tipo tropano extraídos de *Schizanthus grahamii*, diluidos en etanol al 7%, en dosis de 100 mg/kg de peso vivo. La PAS se midió los días 8, 10, 12 y 14 previo y posterior a 30 minutos del tratamiento. Además en este periodo se evaluó la respuesta pupilar a un estímulo luminoso; y **Periodo 3:** Valoración de la mantención del efecto sobre presión arterial (días 15 a 17), en el cual se suspendió en ambas series el tratamiento con *Schizanthus grahamii*, midiéndose la presión diariamente.

Las soluciones utilizadas fueron administradas por vía oral, en volumen de 0,5 ml/100 g de peso vivo, a través de una sonda buco-esofágica. La determinación no invasiva de la PAS se realizó en la cola de la rata con un equipo de ultrasonido Doppler.

Al analizar los resultados obtenidos no se observaron cambios estadísticamente significativos ($P > 0,05$) en la PAS, tanto en la serie 1 como 2, tratadas con alcaloides purificados de *Schizanthus grahamii* y la respuesta pupilar se presentó en cada una de las mediciones. Después de la suspensión del tratamiento la PAS se mantuvo, no presentándose diferencias significativas.

Se concluye que los alcaloides tipo tropano extraídos de *Schizanthus grahamii* utilizados en este trabajo, en las dosis administradas, no producen modificación significativa de la PAS tanto en ratas normotensas como hipertensas. Además, el extracto utilizado en la dosis suministrada no produce pérdida del reflejo pupilar.

Palabras claves: *Schizanthus grahamii*, alcaloides tipo tropano, presión arterial, L-NAME.

“EFFECT OF TROPANE TYPE ALKALOIDS PRESENT IN *Schizanthus grahamii* ON THE ARTERIAL PRESSURE, IN NORMOTENSIVE AND HYPERTENSIVE RATS”.

2. SUMMARY

The possible effect of alkaloids tropane type extracted from *Schizanthus grahamii* on the systolic arterial pressure (SAP), in normotensive and hypertensive rats was evaluated.

20 Sprague Dawley female rats weighting 200 to 250 g were used, distributed randomly in 2 serie of 10 rats each. Serie 1: normotensive rats and serie 2: hypertensive rats.

The experimental work lasted 17 days and was divided in 3 periods:

Period 1: Induction of hypertension (day 1 to 7) in which NaCl 0,9% saline solution was administered daily to serie 1 and L-arginine-methyl ester (L-NAME) solution in dose of 25 mg/kg to serie 2 (administration that lasted till day 17). The SAP was measured at days 1, 3, 5 and 7, considering hypertensive the rats that showed values equal or higher to 150 mm Hg; **Period 2:** Evaluation of the effect on arterial pressure (day 8 to 14), during which, both series were treated with alkaloids tropane type extracted from *Schizanthus grahamii*, diluted in ethanol 7%, in a dose of 100 mg/kg of body weight. The SAP was measured at days 8, 10, 12 and 14 before and 30 minutes after the treatment. Furthermore, in this period the pupilar response to luminous stimulus was evaluated; and **Period 3:** Evaluation of the maintenance of the effect on arterial pressure (day 15 to 17), in which, the treatment with *Schizanthus grahamii* was suspended in both series and the pressure was measured daily.

The solutions were administered by oral route, in a volume of 0,5 ml/100 g body weight, using a buco-esophagic probe. The non-invasive determination of the SAP was made in the tail of the rat with a Doppler ultrasound equipment.

No significant statically changes ($P>0,05$) in the SAP were observed in the serie 1 and 2 treated with purified alkaloids of *Schizanthus grahamii*, and the pupilar response appeared in each one of the measurements. After the suspension of the treatment, the pressure remained without significant differences in both groups.

It is concluded that the tropane type alkaloids extracted from *Schizanthus grahamii* used in this work, in the administered dose, did not produce significant modifications in the SAP in normotensive and hypertensive rats. In addition, the extract used in the provided dose did not produced loss of the pupilar reflex.

Key words: *Schizanthus grahamii*, tropane type alkaloids, blood pressure, L-NAME.

3. INTRODUCCIÓN

La presión sanguínea es la presión que ejerce la sangre sobre las paredes de las venas y arterias cuando es impulsada por el corazón, resultando como producto del gasto cardiaco y de la resistencia periférica. En un humano, adulto joven, la presión en la aorta, en las arterias braquiales y otras grandes arterias, aumenta durante cada ciclo cardiaco hasta alcanzar un valor máximo (presión sistólica) de casi 120 mm Hg y disminuye a un valor mínimo (presión diastólica) cercano a 70 mm Hg (Ganong, 1998).

Se considera que un individuo presenta hipertensión arterial cuando su presión arterial se encuentra por encima de los límites previamente establecidos. La OMS define a un individuo como hipertenso cuando su presión sistólica está por sobre de 140 mm Hg o la diastólica es superior a 90 mm Hg (Ministerio de Salud, 1995; Tresguerres y col., 1999).

En el control de la presión arterial interviene el sistema nervioso, por medio de varios centros de control; diversos sistemas hormonales que pueden, entre otros efectos, modificar el calibre de los vasos sanguíneos; y un conjunto de mecanismos renales que participan en el control de la volemia. Estos sistemas de regulación se caracterizan por dos condiciones: el tiempo que tardan en activarse ante un cambio de presión, y la duración que tiene su efecto. Sobre estas bases se ha propuesto que los mecanismos de control actúan a corto, medio y largo plazo. Por la rapidez en el tipo de respuesta, la regulación nerviosa sería el sistema más rápido en actuar. Sin embargo, su eficacia reguladora se pierde a lo largo del tiempo, por lo que se precisa un mecanismo alternativo. Por ello y después de la activación nerviosa, se estimulan los sistemas hormonales de control, que por sus características se clasifican como mecanismos de regulación a medio plazo. Finalmente, el riñón ejerce sus efectos de forma más lenta, aunque es capaz de realizar su acción durante un periodo más largo de tiempo, de ahí que también se le conozca como sistema de control a largo plazo (Tresguerres y col., 1999).

Los mecanismos de regulación de la presión arterial de acción rápida son casi en su totalidad reflejos nerviosos agudos u otras respuestas nerviosas. Ello implica que se estimulan como unidad las funciones completas vasoconstrictoras y cardioaceleradoras del sistema nervioso simpático. Al mismo tiempo hay inhibición recíproca de las señales inhibitorias vagales parasimpáticas normales dirigidas al corazón. Tras cualquier caída aguda de la presión, estos mecanismos se combinan para producir: 1) constricción de las venas y así transferir sangre al corazón 2) aumento de la frecuencia y contractibilidad cardiaca, dando al corazón mayor capacidad de bombeo y 3) constricción de las arteriolas para impedir la salida de sangre fuera de las arterias. Todos estos mecanismos actúan espontáneamente para elevar la presión arterial al rango de supervivencia. Cuando la presión se incrementa bruscamente en exceso, o cuando se transfunde excesiva sangre, los mismos mecanismos actúan en dirección opuesta, devolviendo la presión al rango normal (Guyton y Hall, 1998).

El sistema de control local es otro importante mecanismo con que dispone el organismo para mantener la presión arterial dentro de los valores propios de cada individuo. Una de sus funciones consiste en la autorregulación del flujo sanguíneo tisular modulando el tono del músculo liso por mecanismos intrínsecos de la pared, es decir, independientes de factores humorales sistémicos y del sistema nervioso central; y la otra es la regulación por sustancias sintetizadas en la pared de los vasos (Houssay y Cingolani, 2000).

En los últimos años ha habido grandes avances en el estudio de la regulación de la presión sanguínea, uno de los más significantes desarrollos es la comprensión de la importancia de los mediadores locales, generados principalmente por el endotelio, en la regulación de la función vascular. Estos factores son liberados en respuesta a mediadores vaso-activos, cambios en el flujo sanguíneo o en la oxigenación. Estos mediadores pueden actuar tanto como vasodilatadores (óxido nítrico, prostaciclina, factor de hiperpolarización endotelio dependiente), o como vasoconstrictores (endotelinas, metabolitos del ácido araquidónico, factor difusible liberado de las células endoteliales hipóxicas) (Marr, 1999).

Se ha demostrado que, en respuesta a la estimulación por acetilcolina, las células endoteliales producen una sustancia que difunde y al actuar sobre las células musculares lisas, causa su relajación. Esta sustancia identificada posteriormente como óxido nítrico es un vasodilatador cuyo efecto es mediado por incremento de los niveles de GMPc, el cual relaja el músculo liso porque disminuye la concentración de Ca^{2+} en el citosol. El óxido nítrico se forma a partir de L-arginina por la acción de una enzima denominada óxido nítrico sintetasa (Houssay y Cingolani, 2000). Se ha demostrado, además, que el óxido nítrico se descarga en ciertos nervios que inervan a los vasos sanguíneos y que tiene acción inotrópica negativa sobre el corazón (Hardman y col., 2001).

Investigaciones realizadas tanto en animales como en humanos, han demostrado que la administración de inhibidores de la enzima óxido nítrico sintetasa produce vasoconstricción y elevación de la presión arterial sistémica (Cárcamo, 2000). Es así como uno de los mecanismos para provocar hipertensión, consiste en la administración de sustancias derivadas de L-arginina tales como L-N^G-monometil arginina (L-NMMA) y L-nitro arginina metil éster (L-NAME), esta última fue la utilizada en este trabajo. L-NAME induce a un incremento de la presión arterial (Moncada y col., 1991) y a nivel renal reduce la tasa de filtración glomerular, disminuyendo la excreción de sodio urinario y además produce un incremento de la actividad de renina plasmática (Fuster y col., 1997).

La acetilcolina es un neurotransmisor endógeno, a nivel de la sinapsis y las uniones neuroefectoras colinérgicas, en los sistemas nerviosos central y periférico. Las acciones de la acetilcolina son mediadas por receptores colinérgicos nicotínicos y muscarínicos (Hardman y col., 2001).

Los receptores muscarínicos pertenecen a la superfamilia de las proteínas receptoras cuyas funciones son mediadas por la interacción con proteínas G. Se han identificado mediante clonación molecular cinco subtipos de receptores colinérgicos muscarínicos, los cuales se han designado M₁ a M₅ en base a su especificidad farmacológica; los cinco subtipos se hallan en el

SNC. Diversos tejidos pueden contener varios subtipos de receptores muscarínicos, y la complejidad de la neurotransmisión muscarínica se incrementa por la presencia de ganglios parasimpáticos dentro de los tejidos (Hardman y col., 2001).

Hay receptores M_1 en los ganglios de diversas glándulas secretoras; los receptores M_2 predominan en el miocardio y parecen encontrarse también en el músculo liso; por último se encuentran receptores M_3 y M_4 en músculo liso y glándulas secretoras. (Hardman y col., 2001). Los receptores tipo M_4 también están presentes en las células endoteliales vasculares (Flórez, 1997).

En el sistema cardiovascular la acetilcolina tiene cuatro principales efectos: vasodilatación, disminución de la frecuencia cardíaca (efecto cronotrópico negativo), reducción de la velocidad de conducción en los tejidos especializados de los nodos sinoauricular (SA) y auriculoventricular (AV) (efecto dromotrópico negativo), y disminución de la fuerza de contracción cardíaca (efecto inotrópico negativo) (Hardman y col., 2001). Todos estos efectos son de carácter muscarínico, ya que son bloqueados por atropina (Flórez, 1997).

La acetilcolina produce, en esencia, dilatación de todos los lechos vasculares, incluso de los pulmonares y coronarios. Esto se debe a la presencia de receptores muscarínicos, primordialmente del tipo M_3 en las células endoteliales de los vasos sanguíneos; cuando se estimulan estos receptores las células endoteliales descargan factor de relajación derivado del endotelio, u óxido nítrico. También puede generarse vasodilatación, de manera secundaria, al inhibir la acetilcolina la descarga de noradrenalina de las terminaciones nerviosas adrenérgicas (Hardman y col., 2001).

En general los receptores muscarínicos M_3 median la relajación endotelio dependiente, mientras que la contracción puede ser mediada por diversos subtipos. Tanto la relajación como la contracción vascular puede ser mediada también por mecanismos endotelio independientes dependiendo de la ubicación anatómica del vaso. Se ha observado que los receptores muscarínicos M_3 median la relajación de la arteria coronaria equina, la vasculatura renal de los roedores, la aorta de los conejos, las mesentéricas de las ratas, la arteria uterina de los porcinos, las arterias cerebrales felinas, las arterias coronarias de los simios, y algunas arterias bronquiales aisladas. Los receptores muscarínicos M_3 también median la relajación de arterias pulmonares aisladas en humano y la vasodilatación en el antebrazo de pacientes voluntarios sanos o con hipertensión esencial. En los vasos aislados de pulmón de rata, receptores muscarínicos M_1 y M_2 median respectivamente la vasodilatación directa e indirecta (Eglen y col., 1996).

Los receptores muscarínicos colinérgicos del tipo M_3 se encuentran, además de las células del endotelio, en las células del músculo liso de la mayoría de las arterias y arteriolas. La activación de estos receptores en las células del músculo liso provoca su contracción y además vasoconstricción. Sin embargo este efecto vasoconstrictor es normalmente anulado por el efecto vasodilatador de activar los receptores M_3 en las células del endotelio vascular siendo este último efecto más fuerte que la estimulación de los receptores M_3 en el músculo liso (Cunningham, 1999).

La acetilcolina disminuye la frecuencia cardiaca al reducir el ritmo de la depolarización diastólica espontánea (corriente del marcapaso) y al incrementar la corriente repolarizante a nivel de nodo SA.; esta acción retrasa el logro del potencial umbral y los acontecimientos sucesivos en el ciclo cardiaco (Hardman y col., 2001). En el nodo AV aumenta notablemente el periodo refractario, lo que es causa de los bloqueos de conducción; en el músculo ventricular la inervación colinérgica es escasa y dirigida principalmente al sistema de conducción, pero cuando el tono adrenérgico es alto, la acetilcolina provoca una clara reducción de la contractibilidad porque interfiere en el sistema del AMPc y la subsiguiente fosforilación de proteínas intracelulares responsables de la contracción cardiaca (Flórez, 1997).

La clase de fármacos a los que se ha llamado antagonistas de los receptores muscarínicos abarca atropina, su representante mejor conocido, y otros compuestos, la mayor parte de los cuales generan efectos similares desde el punto de vista cualitativo. Los antagonistas de los receptores muscarínicos impiden los efectos de la acetilcolina al bloquear su fijación a los receptores colinérgicos muscarínicos a nivel de los sitios neuroefectores en músculo liso, músculo cardiaco y células glandulares, lo mismo que en ganglios periféricos y SNC (Hardman y col., 2001).

Existen dos fármacos anticolinérgicos muy conocidos que son alcaloides naturales (extraídos de plantas), el más importante por su uso en clínica es atropina, que se extrae de las plantas llamadas *Atropa belladonna* y *Datura stramonium*. El otro alcaloide de importancia es escopolamina que se obtiene de *Hyoscyamus niger*. De estos alcaloides se derivan otros sintéticos como son: homatropina, bromuro de metescopolamina, metilbromuro de escopolamina, metilbromuro de homatropina, anisotropina, elimidio, glicopirrolato, ipratropio y fentonio. Estos fármacos, por su nitrógeno cuaternario no pasan al SNC y dentro de sus reacciones adversas tenemos, que por el hecho de bloquear los receptores nicotínicos del ganglio simpático, producirán hipotensión postural, conocida como hipotensión ortostática. (Marken, 1996).

Los anticolinérgicos presentan diversas aplicaciones terapéuticas como las que se señalan a continuación: bloqueo de la hiperactividad parasimpática, situaciones de hiperactividad gastrointestinal y urinaria, úlcera gastroduodenal, enfermedad respiratoria, medicación preanestésica y aplicaciones oftálmicas (Marken, 1996).

A nivel cardiovascular, como consecuencia del bloqueo de la influencia vagal sobre los receptores M₂ cardiacos, atropina aumenta la automaticidad del nodo SA y la velocidad de conducción en el nodo AV, tanto más cuanto mayor sea el tono vagal basal del individuo; aumenta por lo tanto la frecuencia cardiaca y se acorta el espacio PR del electrocardiograma (Flórez, 1997). A dosis clínicas, la atropina contrarresta por completo la vasodilatación periférica y la disminución aguda de la presión arterial provocada por los colinésteres. En contraste, cuando se da de manera aislada, no es sobresaliente ni constante su efecto sobre los vasos sanguíneos y la presión arterial (Hardman y col., 2001).

Cuando la frecuencia cardiaca se eleva se reduce el tiempo de llenado diastólico, por tanto disminuye el volumen latido, de manera que el gasto cardiaco no aumenta en proporción

con la frecuencia cardíaca. Este problema se encontró cuando las primeras versiones de los marcapasos producían frecuencias ventriculares elevadas, limitando el llenado diastólico y por ello el gasto cardíaco cae por debajo de lo normal. La presión sanguínea puede reducirse a niveles tan bajos que el paciente se siente débil o se desmaya (Cunningham, 1999).

A nivel ocular, los fármacos antagonistas muscarínicos como atropina, bloquean las respuestas del esfínter del iris y del músculo ciliar del cristalino; en consecuencia, producen dilatación pupilar (midriasis) y paralización de la acomodación (ciclopejia). La visión se hace borrosa, aparece fotofobia y disminuye la respuesta pupilar refleja a la luz y la convergencia. Estas modificaciones de los músculos intrínsecos del ojo pueden provocar una dificultad en el drenaje del humor acuoso del ojo con hipertensión ocular. Los efectos oculares aparecen más lentamente y duran más tiempo que el resto de los efectos atropínicos. Si se aplican atropina o escopolamina directamente en el saco conjuntival, estos efectos permanecen durante varios días (Flórez, 1997).

Es importante destacar que las uniones neuroefectoras parasimpáticas de los diferentes órganos no son sensibles por igual a los antagonistas de los receptores muscarínicos. Las dosis pequeñas de antagonistas de los receptores muscarínicos deprimen las secreciones salival y bronquial, y la sudoración. A dosis mayores se dilata la pupila, se inhibe la acomodación del cristalino para la visión de cerca y se bloquean los efectos vagales sobre el corazón de modo que se incrementa la frecuencia cardíaca. Dosis mayores inhiben el control parasimpático de la vejiga urinaria y el tubo digestivo y, por lo tanto, inhiben la micción y disminuyen el tono y la motilidad intestinal. Se requieren dosis aún mayores para suprimir la secreción y la motilidad gástrica. Por lo tanto dosis de atropina y la mayor parte de los antagonistas de los receptores muscarínicos relacionados que reducen el tono gastrointestinal y deprimen la secreción gástrica, afectan también de manera invariable, la secreción salival, la acomodación ocular y la micción (Hardman y col., 2001).

La mayoría de las drogas con propiedades anticolinérgicas (antimuscarínicas) provienen de la familia Solanaceae y comparten una estructura básica común: el anillo tropano. Las plantas del género *Schizanthus*, pertenecientes a la familia Solanaceae, concentran una variada gama de alcaloides con esqueleto tipo tropano (Muñoz, 1992), lo que permite suponer que alguna de estas estructuras tendrían actividad anticolinérgica o bien precursores que den origen a estructuras con actividad biológica relacionada (Gringauz, 1997).

Se han demostrado numerosos efectos biológicos para los alcaloides con esqueleto tipo tropano; sin embargo, ello no ha sido posible demostrar para las plantas chilenas, ni tampoco para las novedosas estructuras que ellas biosintetizan (Muñoz, 1992).

Las plantas que contienen alcaloides de tropano presentan compuestos del tipo atropina y derivados, y por tanto de efectos bloqueantes colinérgicos; de ahí que las investigaciones farmacológicas estén dirigidas al tratamiento de intoxicaciones por organofosforados, en la farmacoterapia de afecciones oculares por su efecto midriático, como inhibidores de la secreción de HCl, estados broncoconstrictivos de predominio vagal, reductoras de la espasticidad del músculo liso intestinal, en la disminución riesgosa de la frecuencia cardíaca,

mareos, vómitos y últimamente para minimizar los síntomas de la enfermedad de Parkinson. Una característica de estas moléculas es que la selectividad de sus efectos es variable, presentando a menudo reacciones adversas inconvenientes (Muñoz, 1992). Esto incentiva a investigar la química y farmacología de los alcaloides presentes en *Schizanthus* como una eventual fuente de novedosas estructuras con potencial acción selectiva (Hartmann y col., 1996).

Las plantas del género *Schizanthus* son endémicas en Chile. Son conocidas más bien por sus características ornamentales que por sus propiedades químicas o su potencial aplicabilidad medicinal. Suelen ser conocidas por una serie de sinonimias comunes: “orquídea del hombre pobre”, “flor de pajarito”, “pajarito”, “mariposita”, etc (Muñoz, 1992). (Figuras N° 1 y 2).



Figura 1: *^a *Schizanthus grahamii*.



Figura 2: *^b *Schizanthus grahamii* (flor)

El género *Schizanthus* comprende sobre 27 especies, todas nativas de Sudamérica (Chile, Argentina y Perú). Alcaloides derivados de tropano han sido reportados en *S. hookerii* (San Martín y col., 1980; Gambaro y col., 1983); *S. grahamii* (San Martín y col., 1987); *S. litoralis* (Muñoz y col., 1996) y en *S. pinnatus* (Griffin y Lin, 1999).

*a: Disponible en Internet: http://www.thompson-morgan.com/seeds/us/product_7429_1.html

*b: Disponible en Internet: http://www.anniesannuals.com/signs/S/Schizanthus_grahamii.htm

Las actuales investigaciones del género *Schizanthus*, en el Instituto de Farmacología de la Universidad Austral de Chile, pretenden determinar y analizar sus aspectos químico-hemisintético, farmacológicos (entre ellos su acción sobre el sistema digestivo, cardiovascular y nervioso) y toxicológico. Para este fin se han seleccionado tres representantes del género: *S. grahamii*, que fue el utilizado en el presente trabajo, *S. hookerii* y *S. litoralis*, la elección se fundamenta en su relativa abundancia natural y una mayor variedad de bases de alcaloides, particularmente de las dos primeras, en relación a otras especies del género.

Trabajos en *Schizanthus grahamii* han permitido el aislamiento de una serie de bases diméricas de tropano: Schizanthina C 35, D 37 y E 38, además del monoéster 3 α -senecioiloxitropano 36 (San Martín y col., 1987). Otros alcaloides con esqueleto tipo tropano presentes en esta especie son: Higrina; Higrina A; Higrina B; Tropinona; Tropina; Pseudotropina; 3 α -acetoxitropano; 3 α , 7 β -dihidroxitropano; 5-(2-oxopropil)-higrina; 5-(2-hidroxi)-higrina; Cuscohigrina; 3 α senecioiloxi-7 β -hidroxitropano y Schizanthina F, G, H e I (Muñoz, 1992).

Los alcaloides extraídos y purificados de *Schizanthus grahamii* que fueron utilizados en el presente trabajo son: 3 α -hidroxi-7 β -trigloiloxitropano; tropanol y 3 α , 7 β -dihidroxitropano.

Según Christofi y col. (1991), la presencia de bases de tropano debería otorgarle a los extractos de *Schizanthus* una actividad antiespasmódica en el músculo liso digestivo, lo que se puede medir cuantitativamente gracias a procedimientos in vitro, con tiras de músculo liso de intestino delgado de rata –en baños de órgano aislado- conectados con transductores de tensión a polígrafos tradicionales o computarizados, que permiten registrar las modificaciones en el tono y actividad basal espontánea. Esta metodología, que fue utilizada por Castillo (2002) con extractos de *S. hookerii*, por Mancilla (2002) al usar extractos de *S. litoralis* y *S. grahamii* y Ponce (2002), utilizando extractos de *S. pinnatus*; no sólo midió el efecto espasmolítico sino que también, gracias a la utilización conjunta de alcaloides de *Schizanthus* con fármacos de reconocido efecto anticolinérgico como atropina, o de efecto colinérgico indirecto como carbacol, permitió demostrar claramente la naturaleza de su mecanismo de acción, es decir, afinidad por los receptores colinérgicos muscarínicos y carencia de actividad intrínseca, por las sinergias y antagonismos condicionados (Katzung, 1998).

La determinación de efectos cardiovasculares es de especial importancia, en el caso de los alcaloides provenientes de *Schizanthus*, ya que poseerían un efecto bloqueador colinérgico y, por lo tanto, al disminuir la acción vagal cardíaca, podrían condicionar un predominio simpático con efecto cronótropo e inótropo positivo, lo que aumenta el débito cardíaco y conlleva a un incremento de la presión arterial. Estos estudios se realizan mediante polígrafos tradicionales o computarizada en ratas normotensas anestesiadas, lo que permite obtener en forma aguda e invasiva registros de presión arterial y electrocardiogramas (Ahumada y col., 1991). También es necesario determinar el efecto de los alcaloides administrados en forma periódica, lo que obliga a realizar estudios con metodologías de registro no invasivo de la presión arterial y de la frecuencia cardíaca en animales conscientes (Pedraza-Chaverri y col., 1998).

En el esquema de trabajo que se utilizó, se consideraron como referencia otros estudios en los cuales se evaluó el efecto sobre presión arterial provocado por extractos naturales (extraídos de plantas) como *Allium ampeloprasum* (Cárcamo, 2000; Gallardo, 2001) y *Tristerix tetrandus* (Torres, 2002), quienes administrando una dosis de 100 mg/kg lograron generar un efecto antihipertensivo en ratas hipertensas no sólo durante los días de administración sino que además éste se mantuvo hasta el siguiente día luego de la suspensión del tratamiento.

3.1 HIPÓTESIS:

En base a los antecedentes descritos anteriormente se planteó la siguiente hipótesis:

Los alcaloides con esqueleto tipo tropano presentes en *Schizanthus grahamii* producen aumento de la presión arterial sistólica en ratas normotensas e hipertensas inducidas por L-NAME.

3.2 OBJETIVOS:

Demostrar que los alcaloides con esqueleto tipo tropano presentes en *Schizanthus grahamii* producen aumento de la presión arterial sistólica en ratas normotensas e hipertensas inducidas por L-NAME.

Demostrar que los alcaloides con esqueleto tipo tropano presentes en *Schizanthus grahamii* producen desaparición del reflejo pupilar.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 MATERIAL:

4.1.1 Biológico:

Se utilizaron 26 ratas hembras de la cepa Sprague-Dawley entre 200 y 250 g de peso provenientes del Bioterio del Instituto de Farmacología de la Universidad Austral de Chile (Figura N° 3, anexo N° 1).

4.1.2 Farmacológico:

- L-nitro-arginina-metil éster (L-NAME).
- Solución isotónica de NaCl al 0,9%.
- Pentobarbital sódico.
- Etanol al 7%.
- Sulfato de atropina al 0,02%.
- Alcaloides 3 α -hidroxi-7 β -trigloiloxitropano; tropanol y 3 α , 7 β -dihidroxitropano, purificados y extraídos de la fracción polar de *Schizanthus grahamii*.*

*Proporcionados por el Dr. Orlando Muñoz, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

4.1.3 Instrumental para evaluar presión arterial: (Figura N° 4, anexo N° 2)

- Equipo de ultrasonido Doppler (Parks Medical Electronic B-811)
- Esfigmomanómetro y manguito inflable.
- Gel para ultrasonido.
- Fuentes de calor.
- Cubículo de inmovilización.

4.1.4 Otros:

- Balanza Soehnle.
- Jeringas desechables de 3 ml.
- Sondas buco-esofágicas de poliuretano.
- Linterna oftálmica.

4.2 MÉTODOS:

Los animales fueron distribuidos al azar en dos series, de 10 ratas cada una, denominadas serie 1 (normotensa) y serie 2 (hipertensa). Además se utilizaron 6 ratas en forma pre-experimental.

En ambas series se midió la presión arterial sistólica (PAS) 30 minutos después de administrados alcaloides tipo tropano extraídos de *Schizanthus grahamii* con el fin de evaluar el efecto agudo provocado por los alcaloides. El efecto generado 24 horas después de la administración se evaluó comparando cada una de las mediciones, previas al tratamiento, y por último se consideró un periodo en el cual se suspendió la administración del extracto y se midió diariamente la presión arterial sistólica, con la finalidad de evaluar si los efectos generados por los alcaloides sobre presión arterial se mantenían en el tiempo.

No se consideró una serie control etanol (diluyente del extracto) para evaluar su efecto sobre presión arterial, ya que se ha demostrado en ratas, que al administrar alcohol etílico al 9,6%, en dosis de 0,5 ml/100 g de peso vivo, por vía intraperitoneal, no se producen diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$) en la presión arterial tanto diastólica como sistólica (Figuroa, 1993).

4.2.1 Condiciones previas de las series experimentales:

Previo a la selección, por 2 días consecutivos, en todas las ratas se midió la presión arterial sistólica en la cola, mediante un método no invasivo utilizando para ello un esfigmomanómetro y un equipo de ultrasonido Doppler (Ultrasonic Doppler Flow Model B-811), con la finalidad de verificar su condición de normotensas.

Se realizó un trabajo pre-experimental con 6 ratas (no consideradas en las series experimentales), con la finalidad de establecer en cuánto tiempo post administración de alcaloides tipo tropano de *Schizanthus grahamii* debía medirse la presión arterial sistólica. Se administró por vía oral sulfato de atropina al 0,02%, en dosis de 1mg/kg y volumen de 0,5 ml/100 g de peso vivo. Posterior a la administración, bajo condiciones ambientales de oscuridad, se evaluó cada 5 minutos la respuesta pupilar por medio de un estímulo luminoso, mediante el empleo de una linterna oftálmica, hasta la pérdida de reflejo pupilar, momento en el cual se midió la PAS nuevamente. Se obtuvo un tiempo promedio de 30 minutos desde la administración de atropina hasta la pérdida de reflejo pupilar, tiempo que fue considerado como referencia para determinar el momento de la medición de la PAS post administración de extractos de *Schizanthus grahamii* en las series experimentales, durante el periodo de valoración del efecto sobre presión arterial.

4.2.2 Periodos de experimentación:

El experimento duró 17 días y se dividió en 3 periodos:

4.2.2.1 Periodo 1: Inducción de hipertensión (días 1 a 7).

En este periodo se administró diariamente, a la serie 1, solución isotónica de NaCl al 0,9%, mediante sonda buco-esofágica, en volumen de 0,5 ml/100g de peso vivo. En la serie 2, se indujo hipertensión arterial mediante la administración diaria de L-nitro-arginina-metil éster (L-NAME), por vía oral, en dosis de 25 mg/kg y volumen de 0,5 ml/100g de peso vivo. Se consideraron hipertensas las ratas que presentaron una PAS mayor o igual a 150 mm Hg.

La PAS se midió día por medio en ambas series (días 1, 3, 5 y 7).

4.2.2.2 Periodo 2: Valoración del efecto de *Schizanthus grahamii* sobre presión arterial (días 8 a 14).

Durante este periodo se continuó administrando diariamente L-NAME a la serie de ratas hipertensas (serie 2), y ambas series fueron tratadas con extractos purificados de *Schizanthus grahamii*, diluidos en etanol al 7%, suministrados diariamente mediante sonda buco-esofágica, en dosis de 100 mg/kg, y volumen de 0,5 ml/100 g de peso vivo.

La PAS se midió día por medio en ambas series, previo y 30 minutos posterior a la administración de extractos purificados de *Schizanthus grahamii* (días 8, 10, 12 y 14).

En ambas series, bajo condiciones ambientales de oscuridad, se evaluó la respuesta pupilar por medio de un estímulo de luz, mediante el empleo de una linterna oftálmica inmediatamente después de administrado el extracto de *Schizanthus grahamii*, y cada 5 minutos hasta que transcurrieron 30 minutos, momento en el cual se midió la PAS nuevamente. Esta variable se evaluó como: ausente o presente.

4.2.2.3 Periodo 3: Valoración de la mantención del efecto de *Schizanthus grahamii* sobre presión arterial (días 15 a 17).

Se mantuvo la administración de L-NAME en la serie 2, suspendiéndose el tratamiento con *Schizanthus grahamii* tanto en la serie normotensa como hipertensa. La PAS se midió diariamente durante 3 días en ambas series.

4.2.3 Condiciones experimentales:

Los animales se mantuvieron en el bioterio, en jaulas colectivas, bajo condiciones ambientales controladas, con una temperatura entre 18°C a 22°C y ciclos de luz-oscuridad alternados de 12 horas. La alimentación fue proporcionada en forma ad-libitum con pellet estandarizado. Asimismo, las ratas tuvieron libre acceso al agua.

Cada vez que se inició el trabajo con cada una de las ratas se controló su peso, el cual fue expresado en gramos.

Previo a la medición de la PAS, la rata se ubicó en una superficie temperada, con la cola bajo una fuente de calor por unos 5 minutos. De esta manera se logró una adecuada vasodilatación por efecto de la temperatura.

Al final del experimento se procedió a la eutanasia de las ratas mediante sobredosis de anestésico (Pentobarbital sódico en dosis de 80 mg/kg).

4.2.4 Procedimiento estadístico:

Los resultados obtenidos en este trabajo experimental se expresaron como medias aritméticas y su error típico, efectuándose además pruebas inferenciales intragrupos, paramétricas y no paramétricas. Se trabajó con un nivel de significación de 0,05; considerándose como significativo un $p \leq 0,05$.

La metodología estadística aplicada en el análisis de los datos fue la siguiente:

- a) Prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov, la que se usó con el fin de comprobar la normalidad de los datos (Zar, 1999).
- b) Prueba de homocedasticidad de Barlett, usada para comprobar que las varianzas entre las series sean homogéneas (Zar, 1999).
- c) Análisis de varianza paramétrico (Andeva) de una vía, cuyo objetivo es comparar los promedios de tres o más grupos de datos (Spiegel, 1991).
- d) Prueba de comparaciones múltiples de Tukey, usada en los casos en que el Andeva paramétrico resultó significativo (Zar, 1999).
- e) Análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis, el que se usó en los casos en que no se cumplen los requisitos de normalidad y homocedasticidad (Rosner, 2000).
- f) Pruebas de comparaciones múltiples no paramétricas de Dunn, la que se aplicó en los casos en que la prueba de Kruskal Wallis, resultó significativa (Rosner 2000).
- g) Prueba t de Student de datos no pareados, la que se usó para evaluar si dos grupos difieren o no en forma significativa (Spiegel, 1991).
- h) Corrección de Welch, aplicada en aquellos casos en que la prueba de t de Student de datos no pareados no cumplía con los requisitos de homocedasticidad de las varianzas.

El análisis de los resultados se realizó usando el programa computacional estadístico Graph Pad Prism (versión 3.0).

5. RESULTADOS

El análisis estadístico de los resultados obtenidos a partir del efecto generado sobre presión arterial sistólica en ratas, producto de la administración de los alcaloides tipo tropano 3 α -hidroxi-7 β -trigloiloxitropano; tropanol y 3 α , 7 β -dihidroxitropano, extraídos de *Schizanthus grahamii*, en la serie 1 (normotensa) y 2 (hipertensa), se realizó por separado en cada una de las series, presentándose los valores de presión arterial sistólica promedio (PASP) de acuerdo a los periodos de experimentación.

5.1 PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA PROMEDIO (PASP) DEL PERIODO 1: INDUCCIÓN DE HIPERTENSIÓN POR L-NAME (DÍAS 1, 3, 5 Y 7).

5.1.1 Serie 1 (normotensa):

La PASP, en esta serie, no presentó diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$) durante el periodo de inducción de hipertensión, en el cual se administró solución isotónica de NaCl al 0,9% (anexos N° 3 y 4).

5.1.2 Serie 2 (hipertensa):

Los valores de PASP, en esta serie, presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$) entre el día 1 y los días 3, 5 y 7 del periodo de inducción de hipertensión; no así entre estos últimos. La PASP para los días de medición fueron: $127,8 \pm 3,70$ para el día 1; $171,2 \pm 3,91$ para el día 3; $165,6 \pm 6,43$ para el día 5 y $165,2 \pm 3,37$ para el día 7. Las presiones fueron tomadas previo a la administración de L-NAME (Gráfico N° 1, anexo N° 5).

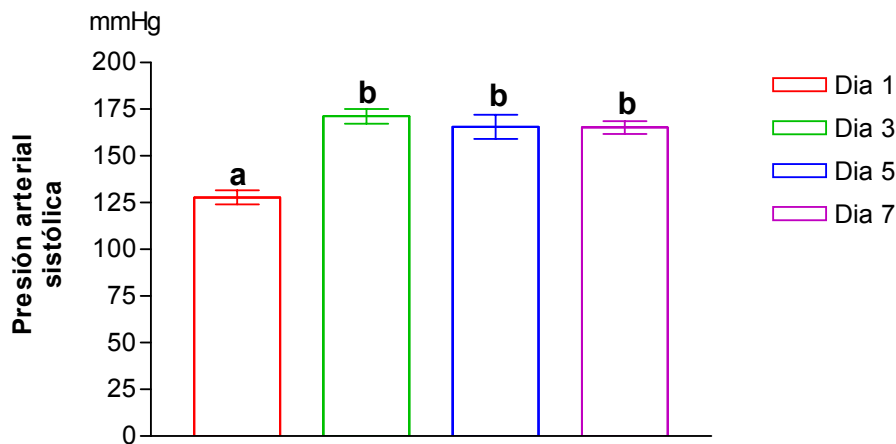


Gráfico N° 1: Presión arterial sistólica promedio (\pm E.E), en ratas, expresada en mm de Hg, de la serie 2 (hipertensa) durante el periodo de inducción de hipertensión (días 1, 3, 5 y 7). Letras minúsculas distintas señalan diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$).

5.2 PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA PROMEDIO (PASP) DEL PERIODO 2: VALORACIÓN DEL EFECTO DE *Schizanthus grahamii* SOBRE PRESIÓN ARTERIAL (DÍAS 8, 10, 12 Y 14), PREVIO Y 30 MINUTOS POSTERIOR AL TRATAMIENTO.

No se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$), en ninguna serie, entre los valores de PASP durante el periodo de valoración del efecto sobre presión arterial, tanto en las mediciones previo como 30 minutos posterior a la administración de alcaloides purificados de *Schizanthus grahamii*. (Gráficos N° 2 y 3, anexos N° 6 y 7).

5.2.1 Serie 1 (normotensa):

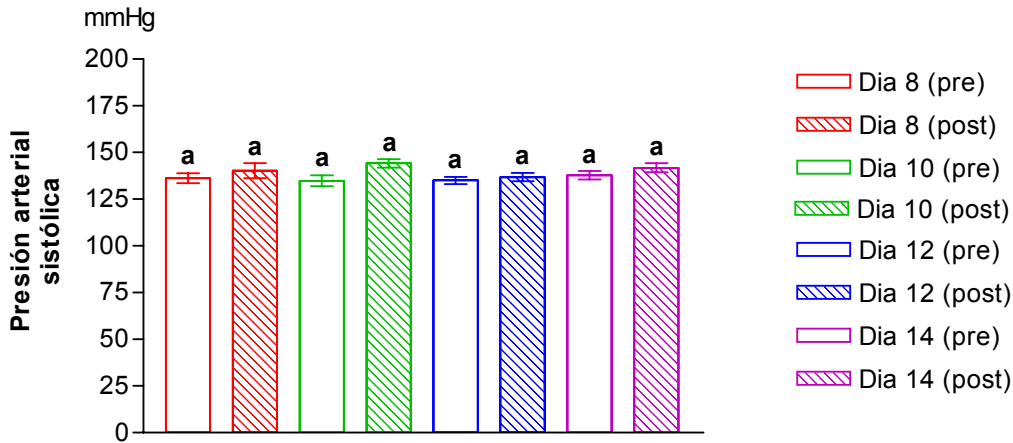


Gráfico N° 2: Presión arterial sistólica promedio (\pm E.E), en ratas, expresada en mm de Hg, de la serie 1 (normotensa) durante el periodo de valoración del efecto sobre presión arterial (días 8, 10, 12 y 14) previo (pre) y 30 minutos posterior (post) a la administración de alcaloides tipo tropano de *Schizanthus grahamii*. Letras minúsculas iguales señalan ausencia de diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$).

5.2.2 Serie 2 (hipertensa):

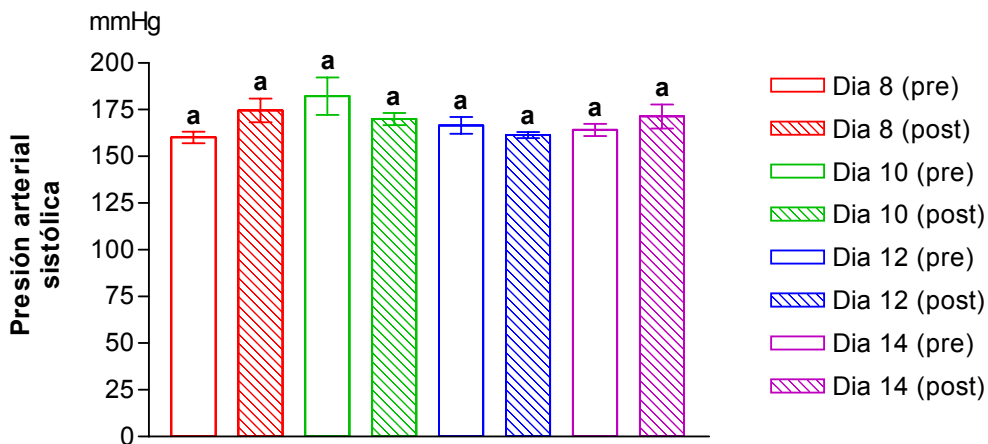


Gráfico N° 3: Presión arterial sistólica promedio (\pm E.E), en ratas, expresada en mm de Hg, de la serie 2 (hipertensa) durante el periodo de valoración del efecto sobre presión arterial (días 8, 10, 12 y 14) previo (pre) y 30 minutos posterior (post) a la administración de alcaloides tipo tropano de *Schizanthus grahamii*. Letras minúsculas iguales señalan ausencia de diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$).

5.3 PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA PROMEDIO (PASP) DEL DÍA 7 EN COMPARACIÓN CON LOS VALORES DE PASP DEL PERIODO 2: VALORACIÓN DEL EFECTO DE *Schizanthus grahamii* SOBRE PRESIÓN ARTERIAL (DÍAS 8, 10, 12 Y 14).

5.3.1 Mediciones previas al tratamiento:

Al comparar el valor de PASP del último día del periodo de inducción de hipertensión (día 7), en el cual la serie 2 se encontraba en estado de hipertensa, con los valores de PASP obtenidas durante el periodo de valoración del efecto sobre presión arterial previo a la administración de alcaloides purificados de *Schizanthus grahamii*, no se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$) en ninguna de las series (anexos N° 8, 9, 10 y 11).

5.3.2 Mediciones posteriores al tratamiento:

En ambas series, no se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$) entre el valor de PASP del día 7, en el cual se consideró a la serie 2 como hipertensa, y los valores de PASP obtenidas durante el periodo de valoración del efecto sobre presión arterial 30 minutos posterior a la administración de alcaloides purificados de *Schizanthus grahamii* (anexos N° 12, 13, 14 y 15).

5.4 PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA PROMEDIO (PASP) DEL DÍA 14, PREVIO AL TRATAMIENTO, EN COMPARACIÓN CON LOS VALORES DE PASP DEL PERIODO 3: VALORACIÓN DE LA MANTENCIÓN DEL EFECTO DE *Schizanthus grahamii* SOBRE PRESIÓN ARTERIAL (DÍAS 15, 16 Y 17).

Al comparar el valor de PASP obtenido previo al tratamiento, del último día del periodo de valoración del efecto sobre presión arterial (día 14), día en el cual finalizó la administración del extracto de *Schizanthus grahamii*, con los valores de PASP obtenidos durante el periodo de valoración de la mantención del efecto sobre presión arterial (días 15, 16 y 17), no se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$) en ninguna de las series (Gráficos N° 4 y 5, anexos N° 16 y 17).

Serie 1 (normotensa):

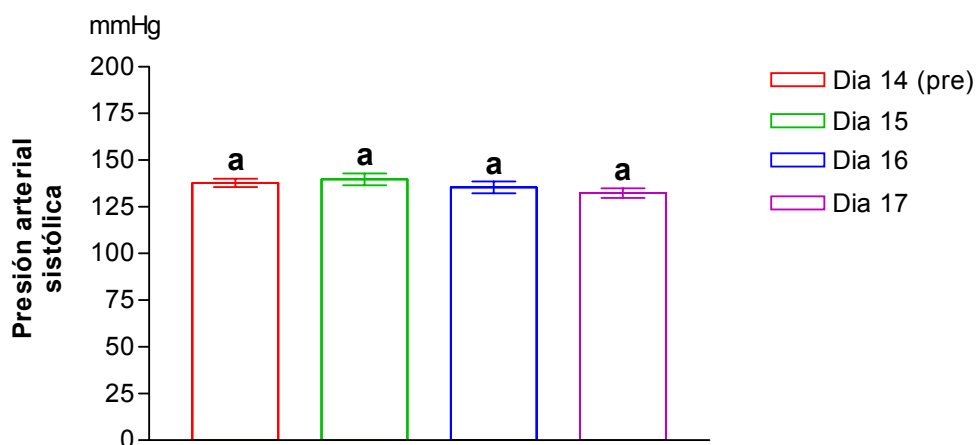


Gráfico N° 4: Presión arterial sistólica promedio (\pm E.E), en ratas, expresada en mm de Hg, de la serie 1 (normotensa) al término del periodo de valoración del efecto sobre presión arterial (día 14) previo (pre) a la administración de alcaloides tipo tropano de *Schizanthus grahamii* y durante el periodo de valoración de la mantención del efecto sobre presión arterial (días 15, 16 y 17). Letras minúsculas iguales señalan ausencia de diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$).

Serie 2 (hipertensa):

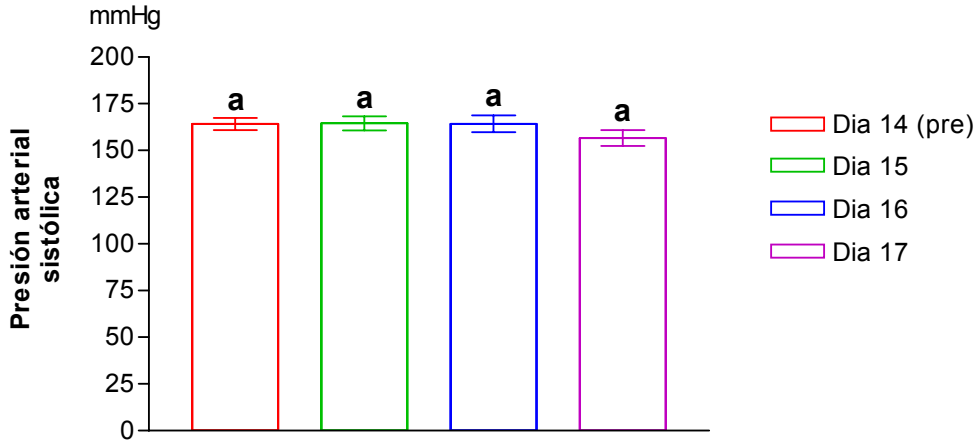


Gráfico N° 5: Presión arterial sistólica promedio (\pm E.E), en ratas, expresada en mm de Hg, de la serie 2 (hipertensa) al término del periodo de valoración del efecto sobre presión arterial previo (pre) a la administración de alcaloides tipo tropano de *Schizanthus grahamii* y durante el periodo de valoración de la mantención del efecto sobre presión arterial (días 15, 16 y 17). Letras minúsculas iguales señalan ausencia de diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$).

5.5 VARIACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA PROMEDIO (PASP), DURANTE EL EXPERIMENTO, EN AMBAS SERIES (Gráfico N° 6, anexo N° 18).

5.5.1 Periodo 1: Inducción de hipertensión arterial (días 1 a 7).

En la serie 1 (normotensa), no se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$) entre los valores de PASP de los días de medición.

En la serie 2 (hipertensa), el valor de PASP ascendió significativamente ($P \leq 0,05$) desde $127,8 \pm 3,70$ (día 1) a $171,2 \pm 3,91$ mm Hg (día 3). Al término del periodo (día 7) la PASP fue de $165,2 \pm 3,37$ mm Hg evidenciando la condición de hipertensión de la serie en estudio.

5.5.2 Periodo 2: Valoración del efecto de *Schizanthus grahamii* sobre presión arterial (días 8 a 14).

En la serie 1 (normotensa), en cada uno de los días de medición, la PASP de las mediciones 30 minutos posterior a la administración del extracto de *Schizanthus grahamii* se elevó levemente con respecto al valor de PASP de las mediciones previo a la administración del extracto, pero no en forma significativa ($P > 0,05$). Tampoco varió en forma significativa ($P > 0,05$) la PASP entre los días de medición.

En la serie 2 (hipertensa), no hubo variaciones significativas ($P > 0,05$) de la PASP entre las mediciones previo y 30 minutos posterior a la administración del extracto de *Schizanthus grahamii*, así como tampoco entre los días de evaluación.

5.5.3 Periodo 3: Valoración de la mantención del efecto de *Schizanthus grahamii* sobre presión arterial (días 15 a 17).

En ambas series hubo una disminución de la PASP a partir del día 15, no siendo esta variación de tipo significativa ($P > 0,05$).

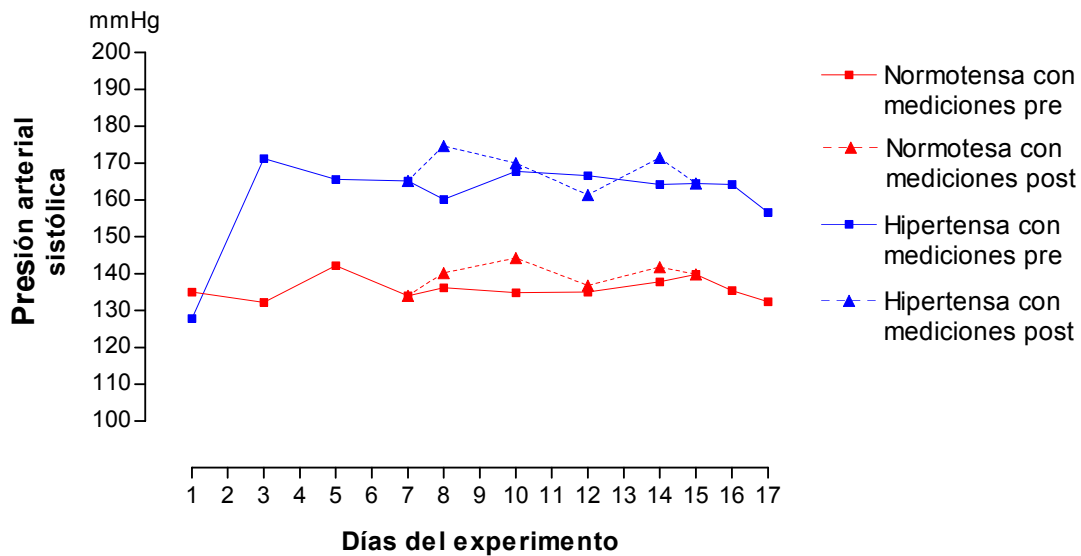


Gráfico N° 6: Variación de la PASP de las 2 series experimentales de ratas en estudio, expresada en mm de Hg, durante el desarrollo del experimento. Se incluyen en el periodo de valoración del efecto sobre presión arterial (días 8 a 14), tanto las mediciones previo (pre) como 30 minutos posterior (post) a la administración del extracto de *Schizanthus grahamii*.

5.6 EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA PUPILAR.

En ambas series, la respuesta pupilar al estímulo luminoso se evaluó como PRESENTE en cada una de las observaciones realizadas inmediata a la administración del extracto de *Schizanthus grahamii* y luego cada 5 minutos hasta transcurridos 30 minutos.

6. DISCUSIÓN

6.1 PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA NORMAL.

En el día 1 del presente trabajo experimental, utilizando el método Doppler en ratas conscientes, se obtuvieron valores de presión arterial sistólica promedio (PASP) de $135,0 \pm 2,91$ mm Hg en la serie 1 (normotensa) y de $127,8 \pm 3,70$ en la serie 2 (hipertensa), previo a la administración de L-NAME.

En la literatura se citan valores de PASP en ratas normotensas de 114 ± 3 mm Hg (Frank, 1976), 134 ± 4 mm Hg (Melby y Altman, 1976) y de 127 ± 2 mm Hg (Bouriquet y Casellas, 1995). En trabajos realizados en el Instituto de Farmacología de la Universidad Austral de Chile se ha utilizado el mismo método de medición de presión arterial sistólica obteniéndose valores en ratas normotensas conscientes muy similares al presente estudio (Cárcamo, 2000; Gallardo, 2001; Pantanalli, 2001; Yutronic, 2001; Torres, 2002). Estas referencias permiten afirmar que los valores de PASP de los individuos normotensos al inicio del presente estudio estuvieron dentro de los rangos esperados para la especie.

6.2 INDUCCIÓN DE HIPERTENSIÓN.

En la serie hipertensa inducida por L-NAME, se obtuvo al final del periodo, una PASP de $165,2 \pm 3,376$ mm Hg, valor que fue significativamente superior al registrado al inicio del periodo. Utilizando el mismo método de evaluación, administrando L-NAME, Cárcamo (2000), Pantanalli (2001) y Torres (2002), reportan valores de PASP de $155,4 \pm 1,30$; $154,3 \pm 1,28$ y de $153,6 \pm 1,48$ mm Hg respectivamente, para el mismo momento del estudio, con diferencias estadísticamente significativas respecto de la serie normotensa.

Se han reportado otros resultados con aumentos significativos de la PAS en ratas producto de la administración de L-NAME pero con amplia variabilidad en cuanto a la dosis utilizada y tiempo de administración. Utilizando una dosis de 100 mg/kg/día p.o por 21 días, Sventek y col. (1997) registra una PASP de $189,0 \pm 3,0$ mm Hg. Mendizábal (1999) obtuvo un registro de PASP de 171,1 mm Hg, luego de la administración de L-NAME en dosis de 30 mg/kg/día durante 4 semanas. En ambos trabajos se utilizaron dosis y periodos mayores que en el presente estudio.

En base a los antecedentes planteados se puede atribuir el aumento de la presión arterial en la serie 2, a la administración de L-NAME, sustancia que produce hipertensión arterial por inhibición en la producción del vasodilatador óxido nítrico, reduce la tasa de filtración

glomerular, disminuyendo la excreción de sodio urinario y aumenta la actividad de renina plasmática (Fuster y col., 1997).

6.3 VALORACIÓN DEL EFECTO DE *Schizanthus grahamii* SOBRE PRESIÓN ARTERIAL.

En los resultados obtenidos, no se encontraron diferencias significativas en la PASP, producto de la administración de alcaloides purificados extraídos de *Schizanthus grahamii*, tanto en la serie normotensa como hipertensa.

Según Sharapin y col. (2000), dependiendo del propósito al que se destine, se puede obtener un extracto cuya composición química contiene la mayor parte de los constituyentes químicos de la planta, o uno que contenga sólo constituyentes con una determinada naturaleza.

En *Schizanthus grahamii* se han aislado nuevos alcaloides de tropano que no habían sido descritos para la familia Solanaceae (Muñoz, 1992) y una serie de alcaloides que ya habían sido encontrados en otras especies del género (San Martín y col., 1987). Utilizando los alcaloides con esqueleto tipo tropano 3 α -hidroxi-7 β -trigloiloxitropano; tropanol y 3 α , 7 β -dihidroxitropano, extraídos de la fracción polar de *Schizanthus grahamii*, no se logró generar cambios en la presión arterial sistólica de ratas normotensas e hipertensas. Sin embargo, hasta las investigaciones actuales no habían sido evaluados los efectos sobre presión arterial de estos alcaloides, por lo tanto cabe la posibilidad que a sólo algunos de ellos se les atribuya alguna actividad biológica como la mencionada, y que no hayan sido incluidos en el presente estudio.

La capacidad de disminuir el tono muscular en íleon de rata ya ha sido demostrado en algunos alcaloides del género *Schizanthus*, debido a sus propiedades anticolinérgicas sobre los receptores muscarínicos (Castillo, 2002; Mancilla, 2002; Ponce, 2002). De esta forma, al demostrar resultados sin diferencias significativas para otras actividades biológicas, como cambios en la presión arterial, incentiva a nuevas investigaciones orientadas a la posible utilización de estos alcaloides como bloqueadores colinérgicos pero sin los indeseables efectos secundarios de los medicamentos de uso actual.

En la revisión bibliográfica realizada no se encontraron antecedentes o estudios relacionados con el efecto de extractos de plantas del género *Schizanthus* sobre presión arterial, pero existen publicaciones respecto a la acción de atropina, alcaloide natural extraído de *Atropa belladonna* y *Datura estramonium* sobre el sistema cardiovascular y presión arterial. Con los antecedentes antes mencionados sobre la similitud que tendría este alcaloide con respecto a los extraídos de plantas del género *Schizanthus* en la estructura química y tomando en cuenta que los efectos biológicos de atropina sobre el sistema cardiovascular radicarían en la actividad anticolinérgica, actividad que también fue demostrada para alcaloides de *Schizanthus grahamii* (Mancilla 2002), permitiría de alguna manera comparar la acción de éstos con atropina.

Según Hardman y col. (2001), a dosis clínicas, la atropina contrarresta por completo la vasodilatación periférica y la disminución aguda de la presión arterial provocada por los colinésteres pero cuando se administra de manera aislada, no es sobresaliente ni constante su efecto sobre los vasos sanguíneos y la presión arterial. Al no producirse en este estudio cambios en la PAS con la utilización de alcaloides de *Schizanthus grahamii*, se sugiere carencia de actividad intrínseca (Ponce, 2002) y que para producir cambios en la presión arterial habría que provocar un antagonismo competitivo frente a un agonista colinérgico.

Los efectos de atropina sobre el sistema cardiovascular son mayores en cuanto más sea el tono vagal basal del individuo (Flórez, 1997). Vasques y col. (1999) utilizaron atropina en ratas concientes normotensas, en una dosis 2 mg/kg iv, logrando inhibir significativamente los efectos hipotensores y bradicárdicos del extracto de *W. viscosissima*, debido a las propiedades de éste como agonista muscarínico. En el trabajo realizado por Scheinman y col. (1975), en humanos, se evaluó la respuesta de pacientes con hipotensión sistémica (presión arterial sistólica menor a 100 mm Hg) a la administración de atropina en dosis que variaron de 0,5 a 1,0 mg. totales, resultando en un aumento significativo desde 77 ± 17 mm Hg a 115 ± 12 mm Hg.

Considerando la acción anticolinérgica que tienen los alcaloides presentes en *Schizanthus grahamii* sería interesante evaluar el efecto sobre presión arterial en ratas con hipotensión, bajo el mismo esquema del presente estudio.

En este estudio, como trabajo pre-experimental se administró atropina en dosis de 1 mg/kg p.o lográndose en 30 minutos dilatación pupilar, momento en el cual se esperaría un efecto sobre el sistema cardiovascular. Este trabajo sirvió como referencia al utilizar *Schizanthus grahamii*, esperándose 30 minutos para medir la PAS, sin embargo el efecto ocular no se produjo así como tampoco variaciones significativas de la PAS, lo cual podría atribuirse a: que los alcaloides presentes en el extracto no producen este efecto, que las dosis utilizadas no fueran las suficientes o que haya sido necesario considerar mayor tiempo entre las mediciones.

Sería recomendable que en estudios posteriores se realizaran mediciones secuenciales de presión arterial, entre cada dosis administrada, para determinar con exactitud si en algún momento ocurren cambios significativos de la presión arterial y si éstos se mantienen en el tiempo.

Por otro lado, en un individuo los mecanismos de regulación de la presión arterial (sistemas nervioso, humoral y factores locales) interactúan de tal forma de asegurar un flujo sanguíneo adecuado para el metabolismo de los tejidos, tanto en condiciones fisiológicas basales como ante desequilibrios de naturaleza fisiológica (ejercicio, cambios posturales) o patológica (hemorragia, hipertensión) (Houssay y Cingolani, 2000). Por lo tanto, si los alcaloides tipo tropano presentes en *Schizanthus grahamii*, indujeran cambios significativos en la presión arterial, puede que la activación de los mecanismos de regulación lleven nuevamente al individuo a condiciones basales.

Con respecto al probable efecto del diluyente etanol, la literatura cita que al administrar cantidades moderadas de alcohol, la presión arterial, el gasto cardiaco y la fuerza de contracción del músculo cardiaco no sufren alteraciones (Hardman y col., 2001). Figueroa (1993), al administrar en ratas, alcohol etílico al 9,6% por vía intraperitoneal, en dosis de 0,5 ml/100 g de peso, demostró estadísticamente que no se produjeron diferencias significativas en la presión arterial diastólica y sistólica.

En otros trabajos bajo condiciones experimentales muy similares a este, utilizando extractos naturales (provenientes de plantas), se produjeron disminuciones significativas de la PAS en ratas hipertensas. Es así como Cárcamo (2000) y Gallardo (2001), administrando extracto etanólico de *Allium ampeloprasum* en ratas hipertensas por L-NAME y por el método Goldblatt 2 riñones 1 pinza, respectivamente, lograron disminuir significativamente la PAS. También en el trabajo realizado por Pantanalli (2001) utilizando extracto liofilizado de *Stachytarpheta cayennensis* en ratas hipertensas por L-NAME se obtuvo una disminución significativa de la PAS; resultado que también obtuvo Torres (2002), al usar extracto n-butanólico de *Tristerix tetrandus* en ratas hipertensas por L-NAME. En estos trabajos, al igual que en el presente estudio se utilizó una dosis de 100 mg/kg. del respectivo extracto.

6.4 VALORACIÓN DE LA MANTENCIÓN DEL EFECTO DE *Schizanthus grahamii* SOBRE PRESIÓN ARTERIAL.

Se compararon estadísticamente los valores de PASP obtenidos en cada día del periodo con respecto a la PASP del día 14 previo a la administración de los alcaloides, no encontrándose diferencias significativas.

Al sugerir una actividad atropínica de los alcaloides con esqueleto tropano presentes en *Schizanthus grahamii*, debido a sus semejanzas en cuanto a estructura química y mecanismo de acción, podría esperarse que los efectos provocados por éstos en presión arterial se mantengan en el tiempo por un periodo similar a atropina. No obstante, de acuerdo a la literatura investigada, existen diferencias difíciles de estandarizar respecto a la duración de los efectos sobre presión arterial de atropina, debido a que depende del nivel de presión arterial basal del individuo, o si existiese o no una patología cardiovascular. Según Ko y col. (2001) el efecto hipertensivo en perros sedados, provocado por atropina, utilizada en la dosis convencional (0,04 mg/kg) durante la pre-medicación anestésica, se mantiene por 50 minutos.

De acuerdo a los estudios realizados respecto de los efectos sobre presión arterial de otros extractos naturales, como en el caso de *Allium ampeloprasum*, el efecto antihipertensivo se mantuvo hasta el día siguiente luego de la suspensión de los extractos lo que podría indicar un posible efecto residual de éstos (Cárcamo, 2000; Gallardo, 2001). Similar resultado obtuvo Torres (2002), utilizando extracto de *Tristerix tetandrus*.

Los antecedentes obtenidos en este estudio permitirán ampliar los conocimientos de la farmacología de los alcaloides presentes en las plantas del género *Schizanthus*, como una

eventual fuente de novedosas estructuras con potencial acción selectiva y de esta forma acceder a medicamentos más seguros y específicos, con menos efectos secundarios indeseables, y así en conjunto con futuras experiencias relacionadas, orientar el uso de estas sustancias en la farmacoterapia utilizada en medicina humana y veterinaria.

7. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo, en relación a la administración de los alcaloides tipo tropano 3 α -hidroxi-7 β -trigloiloxitropano; tropanol y 3 α , 7 β -dihidroxitropano, extraídos de la planta de la especie *Schizanthus grahamii*, diluidos en etanol al 7%, en dosis de 100 mg/kg, por vía oral, en volumen de 0,5 ml/100 g, a ratas normotensas e hipertensas inducidas por L-NAME, se concluye lo siguiente:

Los alcaloides utilizados en este trabajo, en las dosis administradas, no producen aumento significativo de la presión arterial sistólica en ratas normotensas, así como tampoco en ratas hipertensas inducidas por L-NAME.

Los alcaloides utilizados en este trabajo, en las dosis administradas, no producen pérdida del reflejo pupilar en ratas normotensas ni en ratas con hipertensión inducida por L-NAME.

8. BIBLIOGRAFÍA

- AHUMADA, F., F. ASPEE, G. WIKMAN, J.L. HANCKE. 1991. *Withania somnifera* extract. Its effect on arterial blood pressure in anaesthetised dogs. *Phytotherapy research*. 5: 111-114.
- BOURIQUET, N., D. CASELLAS. 1995. Chronic L-NAME hypertension in rats and autoregulation of yuxtamedullary preglomerular vessels. *American Journal Physiological Society*. 268: 338-346.
- CÁRCAMO, N. 2000. Efecto de los extractos etanólico y acuoso de *Allium ampeloprasum* (ajo chilote) sobre la presión arterial, administrados por vía oral en ratas hipertensas inducidas por L-NAME. Tesis M.V. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- CASTILLO, C. 2002. Evaluación del efecto inhibitorio del tono muscular de alcaloides tipo tropano presentes en *Schizanthus hookeri* sobre íleon de rata. Memoria de título M.V. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- CHRISTOFI, F.L., J.M. PALMER, J. WOOD. 1991. Neuropharmacology of the muscarinic antagonist telenzepine in myenteric ganglia of the pig small intestine. *J. Pharmacol.* 195: 333-341.
- CUNNINGHAM, J.G., 1999. Fisiología Veterinaria. El corazón como una bomba. Control neural y hormonal de la presión y el volumen sanguíneo. 2ª ed., McGraw-Hill Interamericana. Ciudad de México. México.
- DE LA FUENTE, G., M. REINA, O. MUÑOZ, A. SAN MARTÍN, P.J. GIRAULT, 1988. Tropane alkaloids from *Schizanthus pinnatus*. *Heterocycles* 27: 1887-1897.
- EGLIN, R.M., S. HEGDE, N. WATSON. 1996. Muscarinic receptor subtypes and smooth muscle function. *Pharmacological reviews*. 48: 550-551.
- FIGUEROA, C. 1993. Efecto del extracto de *Panax ginseng*, *Ginkgo biloba* y *Schizandra chinensis* solos y asociados sobre la presión arterial, frecuencias cardiaca y respiratoria en ratas. Tesis M.V. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- FLÓREZ, J. 1997. Farmacología humana. Transmisión colinérgica. Fármacos agonistas colinérgicos. Fármacos antagonistas muscarínicos. 3ª ed., Masson. Barcelona. España.

- FRANK, D. W. 1976. Physiological data of laboratory animals. En: MELBY, C.E., N.H. ALTMAN. Handbook of laboratory animal science. Vol. 3 C.R.C. Press, Cleveland, Ohio.
- FUSTER, V., R. ROSS, E. J. TOPOL. 1997. Arteriosclerosis y enfermedad arterial coronaria. Aspectos genéticos y mecanismos. Springer. Barcelona. España.
- GALLARDO, S. 2001. Valoración del efecto sobre la presión arterial del extracto etanólico de *Allium ampeloprasum* (ajo chilote), administrado por vía oral en ratas hipertensas renovasculares. Tesis M.V. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- GAMBARO, V., C. LABBÉ, M. CASTILLO. 1983. Angeloyl, tigloyl and seneciyoitropane alkaloids from *Schizanthus hookerii*. *Phytochemistry* 22: 1838-1839.
- GANONG, W. 1998. Fisiología Médica. El manual moderno. Hemodinámica y flujo linfático. 16ª ed., McGraw-Hill Interamericana, Ciudad de México. México.
- GRIFFIN W.J., D.G. LIN. 1999. Chemotaxonomy and geographical distribution of tropane alkaloids. *Phytochemistry* 53: 623-636.
- GRINGAUZ, A., 1997. Introduction to medicinal chemistry. Wiley-VCH Inc. New York. USA.
- GUYTON, A., J. HALL. 1998. Fisiología y fisiopatología. Regulación nerviosa de la circulación y control rápido de la tensión arterial. 6ª ed., McGraw-Hill Interamericana. Ciudad de México. México.
- HARDMAN, J., L. LIMBIRD, A. GILMAN. 2001. Goodman and Gilman's: The pharmacological basis of therapeutics. Neurotransmission. Muscarinic receptor agonist and antagonists. 10th ed., McGraw-Hill. New York. USA.
- HARTMANN, R., A. SAN MARTÍN, O. MUÑOZ, E. BREITMAIER. 1996. Grahamine an unusual tropane alkaloid from *Schizanthus grahamii*. *Angewandte Chemie*.29: 385-386.
- HOUSSAY, A. B., H.E. CINGOLANI. 2000. Fisiología Humana. Función endotelial. Control de la presión arterial. 7ª ed., El Ateneo. Buenos Aires. Argentina.
- KATZUNG, B.G. 1998. Basic and Clinical Pharmacology. 7th ed. Appleton and Lange. Connecticut. USA.
- KO, J.C., S.M. FOX, R.E. MANDSAGER. 2001. Effects of preemptive atropine administration on incidence of medetomidine-induced bradycardia in dogs. *Journal of American Veterinary Medical Association*.218: 52-58.

- MANCILLA, C.A. 2002. Evaluación del efecto inhibitorio del tono muscular de alcaloides tipo tropano presentes en plantas del género *Schizanthus* sobre íleon de rata. Memoria de título M.V. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- MARKEN, P.A. 1996. Anticholinergic drug abuse and misuse; epidemiology and therapeutic implications. *CNS Drugs*.5: 190-198.
- MARR, C. 1999. Cardiology of the horse. Control of cardiovascular function: physiology and pharmacology. W.B Saunders. Londres, Inglaterra.
- MELBY, C.E., N.H. ALTMAN. 1976. Handbook of laboratory animal science. Vol. 3 C.R.C. Press, Cleveland, Ohio.
- MENDIZÁBAL, V. 1999. Effects of the chronic in vivo administration of L-NAME on the contractile response of rat perfused mesenteric bed. *Journal of Autonomic Pharmacology*. 19: 241-248.
- MINISTERIO DE SALUD. 1995. Hipertensión arterial, normas técnicas. Santiago, Chile.
- MONCADA, S., R.M. PALMER, E.A. HIGGS. 1991. *Pharmacol. Review* 43: 116-117.
- MUÑOZ, O. 1992. Química de la flora de Chile. Solanaceae. Muñoz, O., Editor. DTI. Universidad de Chile: 189-212.
- MUÑOZ, O., M. PIOVANO, J. GAMBARINO, V. HELLWING, E. BREIRMAIER. 1996. Tropane alkaloids from *Schizanthus litoralis*. *Phytochemistry*. 43: 709-713.
- PANTANALLI, M. 2001. Valoración del efecto antihipertensivo del extracto liofilizado de hojas de *Stachytarpheta cayennensis*, sobre ratas con hipertensión inducida con L-NAME. Tesis M.V. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- PEDRAZA-CHAVERRI, J., E. TAPIA, O. MEDINA-CAMPOS, M. DE LOS ÁNGELES GRANDOS, M. FRANCO. 1998. Garlic prevents hypertension induced by chronic inhibition of nitric oxide synthesis. *Life Sci*. 62: 71-77.
- PONCE, J. 2002. Evaluación del efecto inhibitorio de alcaloides tipo tropano presentes en *Schizanthus pinnatus* sobre el tono muscular de íleon de rata. Memoria de título M.V. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- ROSNER, B. 2000. Fundamentals of Biostatistics. Multisample Inference. 5th ed., Duxbury. USA.

- SAN MARTÍN, A., J. ROVIROSA, V. GAMBARO, M. CASTILLO. 1980. Tropane alkaloids from *Schizanthus hookeri*. *Phytochemistry* 19: 2007-2009.
- SAN MARTÍN, A., C. LABBÉ, O. MUÑOZ, M. CASTILLO, M. REINA, G. DE LA FUENTE, A.G. GONZÁLEZ. 1987. Tropane alkaloids from *Schizanthus grahamii*. *Phytochemistry* 26: 819-822.
- SHARAPIN, N., L. MACHADO, E. SOUZA, E. VALVERDE, E.M. ROCHA, J.M. LOPES. 2000. Fundamentos de Tecnología de Productos fitoterapéuticos. 1ª ed., Convenio Andrés Bello. Santa Fe de Bogotá.
- SCHEINMAN, M., D. THORBURN, J. ABBOTT. 1975. Use of atropine in patients with acute myocardial infarction and sinus bradycardia. *Circulation* 52: 627-633.
- SPIEGEL, M. 1991. Estadística. Análisis de varianza. 2ª ed., McGraw-Hill Interamericana S.A. Madrid. España.
- SVENTEK, P., A. TURGEON, E. SCHIFFRIN. 1997. Vascular endothelin-1 expression and effect on blood pressure of chronic ET_A endothelin receptor antagonism after nitric oxide synthasa inhibition with L-NAME in normal rats. *Circulation* 95: 240-244.
- TORRES, L. 2002. Evaluación del efecto antihipertensivo de extracto n-butanólico de ramas de *Tristerix tetrandus* en ratas con hipertensión inducida con L-NAME. Tesis M.V. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- TRESGUERRES, J.A.F., E. AGUILAR, M.V. CACHOFEIRO, D. CARDINALI, P.G. LOYZAGA, V.L. JULIÁ, J.A MARTINEZ, F. MORA, R. RODRÍGUEZ, M. ROMANO J. TAMARGO, P. ZARCO. 1999. Fisiología Médica. Regulación de la presión arterial. 2ªed., McGraw-Hill Interamericana. Madrid. España.
- VASQUES, C.A.R., S.F. CÔRTEZ, M.S. SILVA, I.A. DE MEDEIROS. 1999. Muscarinic agonist properties of the hydrobutanol extract from aerial parts of *Waltheria viscosissima* St. Hil. (*Sterculiaceae*) in rats. *Phytotherapy Research* 13: 312-317.
- YUTRONIC, V. 2001. Evaluación del efecto antihipertensivo de extractos sin K⁺, acuoso y n-butanólico, de raíz de *Muehlenbeckia hastulata* en ratas hipertensas L-NAME. Tesis M.V. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- ZAR, H. 1999. Bioestatistical analysis. Multisample Hypotheses. 4th ed., Plentice-Hall International Inc. New Jersey. USA.

9. ANEXOS

ANEXO N° 1

Figura no disponible en el documento digital

Figura N° 3: Rata cepa Sprague Dawley.

ANEXO N° 2

Figura no disponible en el documento digital

Figura N° 4: Instrumental para medir presión arterial: equipo de ultrasonido Doppler esfigmomanómetro, manguito inflable, gel de ultrasonido, cubículo de inmovilización.

ANEXO N° 3

Tabla N° 1: Presión arterial sistólica promedio (PASP), con su error estándar (\pm E.E), en ratas, expresada en mm de Hg, de las mediciones en la serie 1 (normotensa), durante el periodo de inducción de hipertensión (días 1, 3, 5 y 7), previo a la administración de solución de NaCl al 0,9%.

| DÍAS DE EVALUACIÓN | PASP (mmHg) | \pm E.E |
|--------------------|-------------|-----------|
| 1 | 135,0 | 2,91 |
| 3 | 132,2 | 2,97 |
| 5 | 142,2 | 3,48 |
| 7 | 134,0 | 3,02 |

ANEXO N° 4

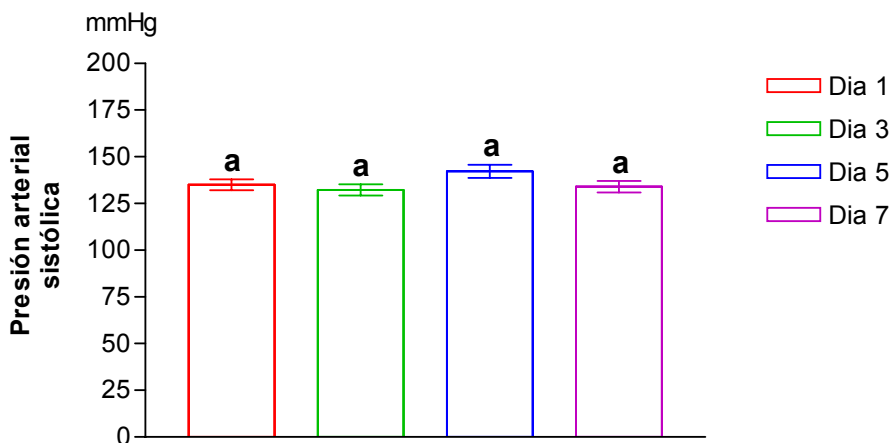


Gráfico N° 7: Presión arterial sistólica promedio (\pm E.E), en ratas, expresada en mm de Hg, de la serie 1 (normotensa) durante el periodo de inducción de hipertensión (días 1, 3, 5 y 7). Letras minúsculas iguales señalan ausencia de diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$).

ANEXO N° 5

Tabla N° 2: Presión arterial sistólica promedio (PASP), con su error estándar (\pm E.E), en ratas, expresada en mm de Hg, de las mediciones en la serie 2 (hipertensa), durante el periodo de inducción de hipertensión (días 1, 3, 5 y 7), previo a la administración de solución de L-NAME.

| DÍAS DE EVALUACIÓN | PASP (mmHg) | \pm E.E |
|--------------------|-------------|-----------|
| 1 | 127,8 | 3,70 |
| 3 | 171,2 | 3,91 |
| 5 | 165,6 | 6,43 |
| 7 | 165,2 | 3,37 |

ANEXO N° 6

Tabla N° 3: Presión arterial sistólica promedio (PASP), con su error estándar (\pm E.E), en ratas, expresada en mm de Hg, de las mediciones en la serie 1 (normotensa), durante el periodo de valoración del efecto sobre presión arterial (días 8, 10, 12 y 14), previo (pre) y 30 minutos posterior (post) a la administración de extractos de *Schizanthus grahamii*.

| DÍAS DE EVALUACIÓN | PASP (mmHg) | \pm E.E |
|--------------------|-------------|-----------|
| 8 (pre) | 136,2 | 2,64 |
| 8 (post) | 140,2 | 4,02 |
| 10 (pre) | 134,8 | 2,89 |
| 10 (post) | 144,2 | 2,22 |
| 12 (pre) | 135,0 | 1,96 |
| 12 (post) | 136,8 | 2,21 |
| 14 (pre) | 137,8 | 2,22 |
| 14 (post) | 141,8 | 2,46 |

ANEXO N° 7

Tabla N° 4: Presión arterial sistólica promedio (PASP), con su error estándar (\pm E.E), en ratas, expresada en mm de Hg, de las mediciones en la serie 2 (hipertensa), durante el periodo de valoración del efecto sobre presión arterial (días 8, 10, 12 y 14), previo (pre) y 30 minutos posterior (post) a la administración de extractos de *Schizanthus grahamii*.

| DÍAS DE EVALUACIÓN | PASP (mmHg) | \pm E.E |
|--------------------|-------------|-----------|
| 8 (pre) | 160,2 | 3,11 |
| 8 (post) | 174,6 | 6,32 |
| 10 (pre) | 167,8 | 19,4 |
| 10 (post) | 170,0 | 3,32 |
| 12 (pre) | 166,6 | 4,52 |
| 12 (post) | 161,4 | 1,66 |
| 14 (pre) | 164,2 | 3,21 |
| 14 (post) | 171,4 | 6,41 |

ANEXO N° 8

Tabla N° 5: Presión arterial sistólica promedio (PASP), con su error estándar (\pm E.E), en ratas, expresada en mm de Hg, de las mediciones en la serie 1 (normotensa), del último día del periodo de inducción de hipertensión (día 7), en conjunto con las mediciones del periodo de valoración del efecto sobre presión arterial (días 8, 10, 12 y 14), previo (pre) a la administración de extractos de *Schizanthus grahamii*.

| DÍAS DE EVALUACIÓN | PASP (mmHg) | \pm E.E |
|--------------------|-------------|-----------|
| 7 | 134,0 | 3,02 |
| 8 (pre) | 136,2 | 2,64 |
| 10 (pre) | 134,8 | 2,89 |
| 12 (pre) | 135,0 | 1,96 |
| 14 (pre) | 137,8 | 2,22 |

ANEXO N° 9

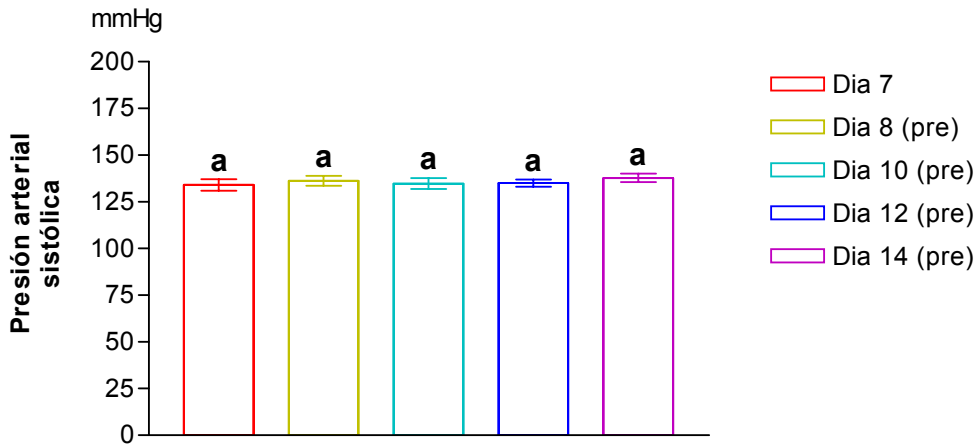


Gráfico N° 8. Presión arterial sistólica promedio (\pm E.E), en ratas, expresada en mm de Hg, de la serie 1 (normotensa) al término del periodo de inducción de hipertensión (día 7) y durante el periodo de valoración del efecto sobre presión arterial (días 8, 10, 12 y 14), previo (pre) a la administración de alcaloides tipo tropano de *Schizanthus grahamii*. Letras minúsculas iguales señalan ausencia de diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$).

ANEXO N° 10

Tabla N° 6: Presión arterial sistólica promedio (PASP), con su error estándar (\pm E.E), en ratas, expresada en mm de Hg, de las mediciones en la serie 2 (hipertensa), del último día del periodo de inducción de hipertensión (día 7), en conjunto con las mediciones durante el periodo de valoración del efecto sobre presión arterial (días 8, 10, 12 y 14), previo (pre) a la administración de extractos de *Schizanthus grahamii*.

| DÍAS DE EVALUACIÓN | PASP (mmHg) | \pm E.E |
|--------------------|-------------|-----------|
| 7 | 165,2 | 3,37 |
| 8 (pre) | 160,2 | 3,11 |
| 10 (pre) | 167,8 | 19,4 |
| 12 (pre) | 166,6 | 4,52 |
| 14 (pre) | 164,2 | 3,21 |

ANEXO N° 11

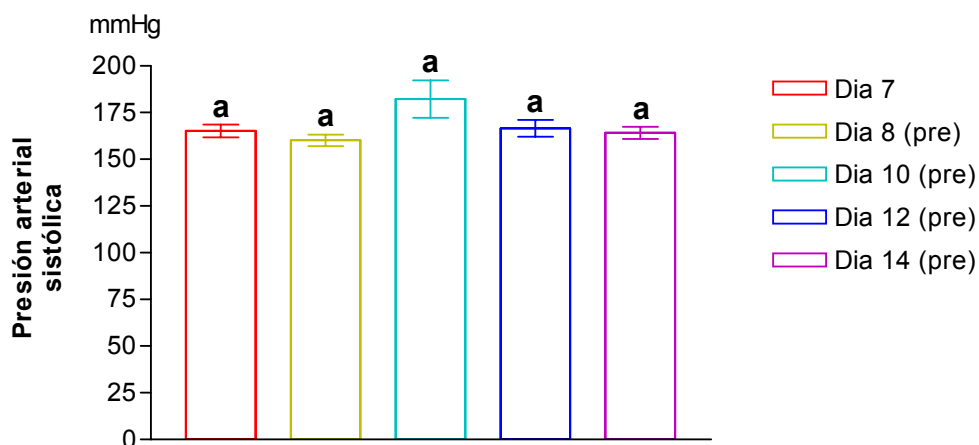


Gráfico N° 9. Presión arterial sistólica promedio (\pm E.E), en ratas, expresada en mm de Hg, de la serie 2 (hipertensa) al término del periodo de inducción de hipertensión (día 7) y durante el periodo de valoración del efecto sobre presión arterial (días 8, 10, 12 y 14), previo (pre) a la administración de alcaloides tipo tropano de *Schizanthus grahamii*. Letras minúsculas iguales señalan ausencia de diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$).

ANEXO N° 12

Tabla N° 7: Presión arterial sistólica promedio (PASP), con su error estándar (\pm E.E), en ratas, expresada en mm de Hg, de las mediciones en la serie 1 (normotensa), del último día del periodo de inducción de hipertensión (día 7), en conjunto con las mediciones del periodo de valoración del efecto sobre presión arterial (días 8, 10, 12 y 14), 30 minutos posterior (post) a la administración de extractos de *Schizanthus grahamii*.

| DÍAS DE EVALUACIÓN | PASP (mmHg) | \pm E.E |
|--------------------|-------------|-----------|
| 7 | 134,0 | 3,02 |
| 8 (post) | 140,2 | 4,07 |
| 10 (post) | 144,2 | 2,20 |
| 12 (post) | 136,8 | 2,21 |
| 14 (post) | 141,8 | 2,46 |

ANEXO N° 13

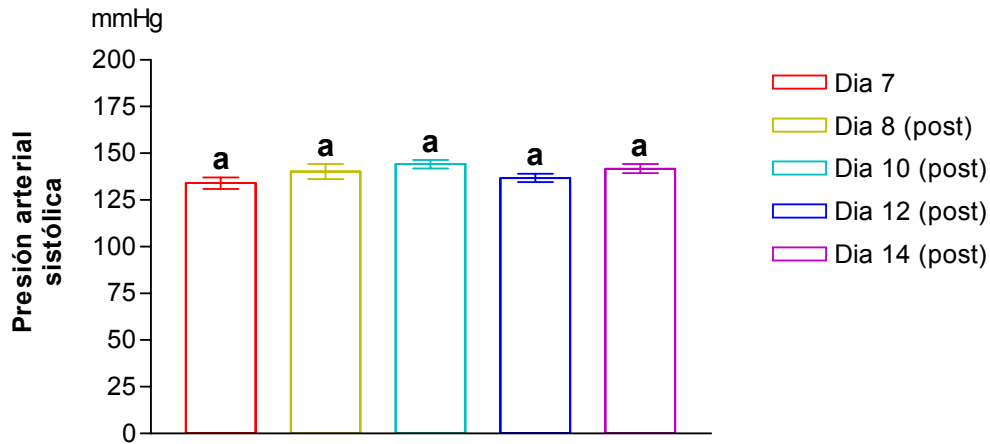


Gráfico N° 10: Presión arterial sistólica promedio (\pm E.E), en ratas, expresada en mm de Hg, de la serie 1 (normotensa) al término del periodo de inducción de hipertensión (día 7) y durante el periodo de valoración del efecto sobre presión arterial (días 8, 10, 12 y 14), 30 minutos posterior (post) a la administración de alcaloides tipo tropano de *Schizanthus grahamii*. Letras minúsculas iguales señalan ausencia de diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$).

ANEXO N° 14

Tabla N° 8: Presión arterial sistólica promedio (PASP), con su error estándar (\pm E.E), en ratas, expresada en mm de Hg, de las mediciones en la serie 2 (hipertensa), del último día de inducción de hipertensión (día 7), en conjunto con las mediciones del periodo de valoración del efecto sobre presión arterial (días 8, 10, 12 y 14), 30 minutos posterior (post) a la administración de extractos de *Schizanthus grahamii*.

| DÍAS DE EVALUACIÓN | PASP (mmHg) | \pm E.E |
|--------------------|-------------|-----------|
| 7 | 165,2 | 3,37 |
| 8 (post) | 174,6 | 6,32 |
| 10 (post) | 170,0 | 3,32 |
| 12 (post) | 161,4 | 1,16 |
| 14 (post) | 171,4 | 6,41 |

ANEXO N° 15

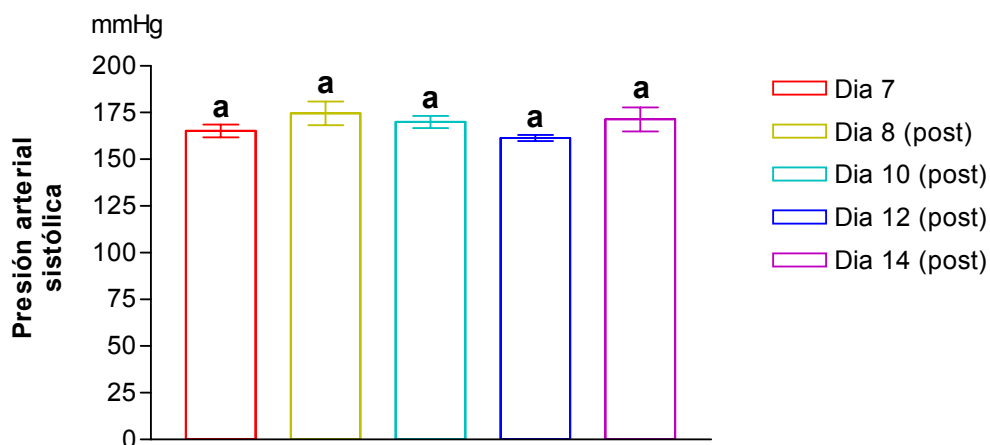


Gráfico N° 11: Presión arterial sistólica promedio (\pm E.E), en ratas, expresada en mm de Hg, de la serie 2 (hipertensa) al término del periodo de inducción de hipertensión (día 7) y durante el periodo de valoración del efecto sobre presión arterial (días 8, 10, 12 y 14), 30 minutos posterior (post) a la administración de alcaloides tipo tropano de *Schizanthus grahamii*. Letras minúsculas iguales señalan ausencia de diferencias estadísticamente significativas ($P>0,05$).

ANEXO N° 16

Tabla N° 9: Presión arterial sistólica promedio (PASP), con su error estándar (\pm E.E), en ratas, expresada en mm de Hg, de las mediciones en la serie 1 (normotensa), del último día del periodo de valoración del efecto sobre presión arterial (día 14), previo (pre) a la administración del extracto de *Schizanthus grahamii*, en conjunto con las mediciones durante el periodo de valoración de la mantención del efecto sobre presión arterial (días 15, 16 y 17).

| DÍAS DE EVALUACIÓN | PASP (mmHg) | \pm E.E |
|--------------------|-------------|-----------|
| 14 (pre) | 137,8 | 2,22 |
| 15 | 139,8 | 3,16 |
| 16 | 135,4 | 3,17 |
| 17 | 132,4 | 2,59 |

ANEXO N° 17

Tabla N° 10: Presión arterial sistólica promedio (PASP), con su error estándar (\pm E.E), en ratas, expresada en mm de Hg, de las mediciones en la serie 2 (hipertensa), del último día del periodo de valoración del efecto sobre presión arterial (día 14), previo (pre) a la administración del extracto de *Schizanthus grahamii*, en conjunto con las mediciones durante el periodo valoración de la mantención del efecto sobre presión arterial (días 15, 16 y 17).

| DÍAS DE EVALUACIÓN | PASP (mmHg) | \pm E.E |
|--------------------|-------------|-----------|
| 14 (pre) | 164,2 | 3,21 |
| 15 | 164,5 | 3,79 |
| 16 | 164,2 | 4,52 |
| 17 | 156,6 | 4,23 |

ANEXO N° 18

Tabla N° 11: Presión arterial sistólica promedio (PASP), en ratas, expresada en mm de Hg, de las mediciones durante los 3 periodos del experimento, en las series 1 (normotensa) y 2 (hipertensa).

| PERIODO | DÍAS DE EVALUACIÓN | SERIE 1 NORMOTENSA | SERIE 2 HIPERTENSA |
|---------|--------------------|-----------------------|-----------------------|
| 1 | 1 | 135,0 | 127,8 |
| | 3 | 132,2 | 171,2 |
| | 5 | 142,2 | 165,6 |
| | 7 | 134,0 | 165,2 |
| 2 | 8 (pre) | 136,2 | 160,2 |
| | 8 (post) | 140,2 | 174,6 |
| | 10 (pre) | 134,8 | 167,8 |
| | 10 (post) | 144,2 | 170,0 |
| | 12 (pre) | 135,0 | 166,6 |
| | 12 (post) | 136,8 | 161,4 |
| | 14 (pre) | 137,8 | 164,2 |
| | 14 (post) | 141,8 | 171,4 |
| 3 | 15 | 139,8 | 164,5 |
| | 16 | 135,4 | 164,2 |
| | 17 | 132,4 | 156,6 |

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Odet y Adolfo; y a mi hermano Juan Carlos, por su gran apoyo y comprensión incondicionales.

A mi novio, Jorge Ponce por todo su amor y dedicación al cumplirse una nueva etapa.

A mis compañeras y amigas Daniela Cabello y Macarena Pérez, por el constante estímulo y tiempo entregados.

A mi profesor patrocinante, Dr. Marcos Moreira, por sus valiosas sugerencias y correcciones en la realización de esta Memoria.

Al Dr. Orlando Muñoz, profesor colaborador, por proporcionar el material e información fundamental para la realización de este trabajo.

A los Dres. Frédérick Ahumada, Juan Hancke y Luis Améstica por sus consejos y cooperación durante el desarrollo de este trabajo.

Al personal del Instituto de Farmacología por la buena disposición y colaboración en esta Memoria.

Al Proyecto DID S 200242, por proporcionar el financiamiento del presente trabajo.