

**UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**  
**INSTITUTO DE FARMACOLOGIA**

**EFEECTO DE ALCALOIDES TIPO TROPANO PRESENTES EN *Schizanthus tricolor*  
SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL EN RATAS NORMOTENSAS E HIPERTENSAS  
RENOVASCULARES.**

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

**CLAUDIA FABIOLA ZIEHLMANN ALVEAL**  
**VALDIVIA – CHILE**

**2003**

**PROFESOR PATROCINANTE** : Dr. Marcos Moreira E. \_\_\_\_\_

**PROFESOR COPATROCINANTE** : Dr. Frédérick Ahumada M. \_\_\_\_\_

**PROFESOR COLABORADOR** : Dr. Orlando Muñoz. \_\_\_\_\_

**PROFESORES CALIFICADORES** : Dr. Rafael Burgos A. \_\_\_\_\_

: Dr. Ricardo Castillo D. \_\_\_\_\_

**FECHA DE APROBACIÓN** : 3 de Diciembre de 2003.

*A mis padres, con amor y gratitud.*

## ÍNDICE.

	Pág.
RESUMEN.....	1
SUMMARY.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
MATERIAL Y MÉTODOS.....	11
RESULTADOS.....	16
DISCUSIÓN.....	23
BIBLIOGRAFÍA.....	31
ANEXOS.....	38
AGRADECIMIENTOS.....	51

## EFFECTO DE ALCALOIDES TIPO TROPANO PRESENTES EN *Schizanthus tricolor* SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL EN RATAS NORMOTENSAS E HIPERTENSAS RENOVASCULARES.

### 1. RESUMEN.

En el presente estudio se evaluó el posible efecto de los alcaloides tipo tropano presentes en el extracto de *Schizanthus tricolor* sobre la presión arterial sistólica (PAS) de ratas normotensas e hipertensas renovasculares.

Se utilizaron 20 ratas macho cepa Sprague-Dawley de entre 110 a 300 g de peso distribuidas al azar en 2 series de 10 ratas cada una: serie 1: normotensas y serie 2: hipertensas.

El trabajo experimental tuvo una duración de 65 días y se dividió en tres períodos:

**Primer período:** Inducción de hipertensión arterial (semanas 1 a 8): Se usaron 15 ratas de aproximadamente 110 g para generar la hipertensión arterial con el modelo Goldblatt. La PAS se midió con el método Doppler, en la cola de las ratas semanalmente, hasta lograr la hipertensión (PAS mayor o igual a 150 mm Hg). **Segundo período:** Valoración del efecto del extracto sobre la PAS (días 1 a 6): Se administró alcaloides tipo tropano extraídos de *Schizanthus tricolor*, diluídos en etanol 7%, en dosis de 20 mg/kg de peso vivo vía intraperitoneal (ip) en volumen de 0,5 ml/100 g de peso a ambas series. La PAS se midió 15 minutos previo y posterior a la administración del extracto los días 2, 4 y 6. Además, se evaluó el efecto del extracto sobre el reflejo pupilar. **Tercer período:** Post-tratamiento (días 6 a 9): Se evaluó el posible efecto acumulativo del extracto sobre la PAS. Durante este período se suspendió la administración del extracto y la PAS se midió diariamente.

Al analizar los resultados obtenidos se observó que la serie 1 presentó aumentos estadísticamente significativos de la PAS ( $p \leq 0,05$ ) en el segundo y tercer período. La serie 2 no presentó diferencias estadísticamente significativas de la PAS.

Se concluye que los alcaloides presentes en el extracto de *Schizanthus tricolor* en dosis de 20 mg/kg de peso vivo vía ip aumentan la PAS en ratas normotensas y mantienen su efecto durante el período post-tratamiento. Los alcaloides utilizados no producen aumento significativo de la PAS en ratas hipertensas. Además, el extracto en la concentración y dosis suministrada no produce pérdida del reflejo pupilar en ambas series.

**Palabras claves:** *Schizanthus tricolor*, alcaloides tipo tropano, presión arterial sistólica, Goldblatt.

## EFFECT OF TROPANE TYPE ALKALOIDS FROM *Schizanthus tricolor* ON THE ARTERIAL PRESSURE IN NORMOTENSIVE AND HYPERTENSIVE RENOVASCULAR RATS.

### 2. SUMMARY.

In the present study, the possible effect of tropane type alkaloids from an extract of *Schizanthus tricolor* on systolic arterial pressure (SAP) in normotensive and hypertensive renovascular rats was evaluated.

20 Sprague-Dawley male rats 110 to 300 grams body weight distributed at random and divided in 2 series of 10 rats each were used. Series 1: normotensive rats. Series 2: Hypertensive rats.

The experimental study lasted 65 days and was divided in 3 periods:

**First Period:** Induction of arterial hypertension (weeks 1 to 8): Using the Goldblatt model, 15 rats weighing 110 grams were used. The SAP was measured using the Doppler method on the tail, weekly, until the hypertension was achieved (equal or higher than 150 mm Hg).

**Second Period:** Assessment of the extract effect on the SAP (days 1 to 6): The tropane type alkaloids extracted from *Schizanthus tricolor*, diluted in ethanol 7%, were administered in doses of 20 mg/kg body weight ip, in volume of 0,5 ml/100 g body weight to both series. The SAP was measured 15 minutes before and after the administration of the extract, on days 2, 4 and 6. The effect of the extract on the pupilar reflex was also evaluated.

**Third Period:** Post-treatment (days 6 to 9): The possible cumulative effect of the extract on the SAP was assessed daily. During this period the administration of the extract was suspended.

The results showed that the SAP on series 1 increased significantly ( $p \leq 0,05$ ), during the second period and third period. Series 2 did not show differences in SAP.

It is concluded that the alkaloids of *Schizanthus tricolor* in doses of 20 mg/kg of body weight ip, increased the SAP in normotensive rats and maintained the effect during the post-treatment period. The used alkaloids, did not significantly increase the SAP in the hypertensive rats, and there was no trace of any loss of the pupilar reflex in both series.

Key words: *Schizanthus tricolor*, alkaloids tropane type, systolic arterial pressure, Goldblatt.

### 3. INTRODUCCIÓN.

La presión arterial es la fuerza que ejerce la sangre contra la pared de las arterias al circular a través del sistema cardiovascular (Planas y Coca, 1998). En cualquier sistema constituido por una bomba y un sistema cerrado de tubos, como el corazón y los vasos sanguíneos, la presión es proporcional a la cantidad de líquido bombeado hacia los tubos multiplicada por la resistencia al flujo ejercida por los tubos. De esta manera, la presión sanguínea aumenta cuando hay un aumento del gasto cardíaco o cuando disminuye el diámetro de los vasos sanguíneos (principalmente arteriolas) (McPhee y col., 2000).

Durante el sístole del ventrículo izquierdo, la sangre es impulsada hacia la arteria aorta dando lugar a un aumento de la presión sanguínea que recibe el nombre de presión arterial sistólica (PAS), tras ello, se inicia una disminución de la presión, que alcanza su mínimo durante el diástole ventricular: presión arterial diastólica (PAD). La elasticidad de la aorta le permite acomodar el gran volumen sistólico y atenuar la variación de presión, de modo que el paso de PAS a PAD sea progresivo (Planas y Coca, 1998).

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 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, mediano 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 como los sistemas hormonales de control; que por sus características se clasifican como mecanismos de regulación a mediano plazo. Finalmente, el riñón ejerce sus efectos de forma más lenta, aunque es capaz de realizar su acción durante un período más largo de tiempo, de ahí que también se le conozca como sistema de control a largo plazo (Tresguerres y col., 2000).

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 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 cardíaca, 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, 2001).

La presión sanguínea se mide casi siempre en milímetros de mercurio (mm Hg) debido a que el manómetro de mercurio se ha utilizado desde la antigüedad como modelo de referencia para la medida de la presión sanguínea (Guyton y Hall, 2001).

No existe una línea divisoria natural entre hipertensión y presión arterial normal, esto se debe a que la presión arterial es una variable cuantitativa continua. Las consecuencias fisiopatológicas de la hipertensión están directamente relacionadas con los valores de presión, asociándose los valores más elevados a mayor riesgo cardiovascular y de mortalidad. Por lo general, se establece como límite entre normotenso e hipertenso en un adulto (mayor de 18 años) con cifras de presión arterial sistólica y diastólica de 140/90 mm Hg (Vial y col., 1990; Planas y Coca, 1998).

Desde un punto de vista clínico la hipertensión arterial se ha clasificado considerando si ésta se debe a un factor o a una enfermedad conocida (hipertensión secundaria) o si no se puede identificar ninguna causa clínica específica de hipertensión (hipertensión esencial). Entre el 90 al 95% de los pacientes hipertensos padecen hipertensión esencial; sólo entre un 5 a 10% de los pacientes con presiones arteriales persistentemente elevadas presentan hipertensión de etiología conocida o secundaria (Frohlich, 1997).

Existen varios procedimientos por los que podemos inducir aumentos de presión arterial. Una posibilidad es provocar, en animales de experimentación, la estenosis de una arteria renal. (Tresguerres y col., 2000).

El método Goldblatt, es el método utilizado en este trabajo y lleva su nombre en honor a quien fue el primero en estudiar los aspectos cuantitativos de la hipertensión causada por estenosis de la arteria renal. El sistema renina-angiotensina es el que produce el ascenso temprano de la tensión arterial en la hipertensión de Goldblatt a través de dos mecanismos: El primero es la vasoconstricción y el segundo es actuando sobre los riñones para disminuir la excreción de sal y agua. Por lo tanto, aunque por razones diferentes, ambos riñones se vuelven retenedores de sal y agua. En consecuencia se desarrolla hipertensión (Guyton y Hall, 2001).

La hipertensión renovascular es la elevación aguda o crónica de la presión arterial, causada por la oclusión parcial o completa de una o ambas arterias renales o de sus ramas, frecuentemente corregible por cirugía o por angioplastia transluminal percutánea. Esta estenosis u oclusión puede producir hipertensión porque estimula la liberación de la enzima renina por las células yuxtaglomerulares del riñón afectado. El diámetro interno tiene que estar reducido en un 70% antes de que la estenosis sea hemodinámicamente significativa. En pacientes mayores de 50 años (generalmente hombres) la causa más frecuente de estenosis de la arteria renal es la arterioesclerosis; en enfermos más jóvenes (generalmente mujeres) son las displasias fibrosas. La hipertensión renovascular se caracteriza por un gasto cardíaco elevado y una alta resistencia periférica (Manual Merck, 2001).

Todas las acciones de la angiotensina II se han atribuido a una acción en receptores tipo 1 y tipo 2, los cuales se antagonizan entre sí. En el riñón, el receptor tipo 1 induce la vasoconstricción y la retención del sodio, mientras que el receptor tipo 2 promueve la vasodilatación y la natriuresis (Carey y col., 2000).

Se ha demostrado que la angiotensina II provoca un mayor aumento de la resistencia vascular renal, cuando está disminuida la síntesis de óxido nítrico (ON) o de prostaglandinas. Sin importar la localización exacta del defecto en la síntesis del óxido nítrico, esta anomalía puede desempeñar un papel importante en el deterioro de la vasodilatación en pacientes con hipertensión esencial, contribuyendo a la patofisiología de esta condición (Panza y col., 1993; Tresguerres y col., 2000).

Los factores de riesgo tradicionales tales como hipertensión, tabaquismo, diabetes, envejecimiento e hipercolesterolemia inducen la disfunción endotelial de las arterias coronarias debido a la biodisponibilidad disminuida del ON. Un endotelio alterado puede perder su capacidad de ejercer su efecto protector sobre el sistema vascular reduciendo sus acciones antiateroscleróticas y antitrombóticas y así, desempeñando un papel patofisiológico dominante en el desarrollo y la progresión del proceso aterosclerótico (Ramzi y col., 2001; Perticone y col., 2001).

Para medir presión arterial se pueden usar métodos directos e indirectos. Si se inserta una cánula en una arteria, la presión arterial se puede medir de modo directo con un manómetro de mercurio o con un transductor de presión y un polígrafo (Ganong, 1998). Un método indirecto de medir la presión arterial es a través de equipos de ultrasonido Doppler, que se basan en el efecto Doppler, que es el fenómeno por el cual la frecuencia de una onda recibida después de la reflexión por un objeto en movimiento se cambia por aquella que tenía al salir de su fuente. La mayor parte de las aplicaciones médicas del efecto Doppler en ultrasonidos utilizan transductores estacionarios para transmitir y recibir las ondas ultrasónicas. Las ondas viajan desde una fuente a un receptor por reflexión; si hay movimiento del reflector hacia el transductor, la frecuencia recibida aumentará por el efecto Doppler y viceversa. La interpretación del examen Doppler permite obtener valores volumétricos y de presiones (mm Hg), dependiendo del equipo que se use (Taylor y col., 1999).

El diagnóstico de la hipertensión esencial depende de la demostración repetida de una presión arterial (PA) sistólica y/o diastólica más alta de lo normal, y de la exclusión de causas secundarias. Al menos deberán hacerse dos determinaciones de la PA durante 3 días antes de diagnosticar a un paciente hipertenso (Manual Merck, 2001).

En relación al tratamiento de la hipertensión arterial, la farmacoterapia ha tenido un éxito relativo, no se conoce un tratamiento que asegure una mejoría sin la aparición de reacciones adversas, como la hipokalemia, hiperglicemia, bradicardia, mareos, entre otros síntomas, que llevan al paciente al abandono de la terapia (Vial y col., 1990).

La fitomedicina y la homeopatía han propuesto la utilización de diversas sustancias que tendrían efectos benéficos sin condicionar reacciones adversas (Figueroa., 1993).

Con el nombre de fármacos colinérgicos se ha denominado a todos aquellos fármacos que imitan la acción de Acetilcolina (ACh) liberada en las terminaciones nerviosas postganglionares parasimpáticas (Parsons y col., 1993). Los receptores muscarínicos fueron definidos por Sir Henry Dale en 1914, como aquellos que eran activados selectivamente por muscarina y bloqueados por atropina, y los receptores nicotínicos como aquellos que eran activados por nicotina y bloqueados por curare (Hulme y col., 1990).

Se han descrito cinco subtipos de receptores muscarínicos, principalmente con base en datos de experimentos sobre unión a ligandos y clonación de cDNA. En la actualidad se está volviendo común una terminología estándar para estos subtipos ( $M_1$  a  $M_5$ ), y hay buenas pruebas, basadas principalmente en agonistas y antagonistas selectivos, que sugieren que hay diferencias funcionales para estos subtipos (Craig y Stitzel, 1994; Katzung, 2002).

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. Los receptores tipo  $M_4$  también están presentes en las células endoteliales vasculares (Hardman y col., 2001; Flórez, 2003).

Los efectos de la activación de los diferentes subtipos de receptores muscarínicos presentes tanto en musculatura lisa vascular como en endotelio, son variables según la especie animal; localización anatómica del vaso sanguíneo; subtipo de receptor muscarínico predominante y la interacción con agentes muscarínicos. Es así, como la activación de receptores  $M_3$  ubicados a nivel vascular producen vasodilatación en arterias coronarias de simios y equinos; arterias renales y mesentéricas de ratas; aorta de conejo y rata; arteria uterina de cerdos; arterias pulmonares humanas; arterias femorales y cerebrales de gatos. A su vez existe vasoconstricción mediada por receptores  $M_3$  en: arterias coronarias de ratas; vena porta de cerdos y arterias pulmonares de humanos (Eglen y col., 1996). Se debe de considerar que los receptores  $M_3$  localizados en la musculatura lisa vascular poseen un efecto vasoconstrictor, el cual es normalmente anulado por la actividad de los receptores  $M_3$  endoteliales que vasodilatan (Cunningham, 1999).

En el sistema cardiovascular ACh 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 (Hardman y col., 2001). Todos estos efectos son de carácter muscarínico, ya que son bloqueados por atropina (Flórez, 2003).

ACh produce, en esencia, dilatación de todos los lechos vasculares, incluso de los pulmonares y coronarios. La dilatación de los lechos vasculares por los colinésteres se debe a la presencia de receptores muscarínicos, primordialmente del tipo  $M_3$  (Bruning y col., 1994). Los receptores muscarínicos encargados de la relajación se encuentran 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 (Moncada y

col., 1991). Por lo tanto, la disfunción del endotelio podría tener un profundo efecto sobre la PA, motivo por el cual su papel en la hipertensión está siendo investigado. La evidencia de que las personas hipertensas tienen una actividad disminuída del óxido nítrico es preliminar (Taddei y col., 1997; Beers y Berkow, 1999).

Los compuestos con efectos antimuscarínicos que existen en la naturaleza se conocieron y emplearon durante milenios como medicamentos, venenos y cosméticos. La eficacia de los fármacos antimuscarínicos varía según el tejido que se estudie y la fuente del agonista (Katzung, 2002).

Atropina fue aislada desde *Atropa belladonna* y *Datura stramonium* por primera vez en 1831 y sus efectos fueron estudiados principalmente durante la segunda mitad del siglo XIX. Los fármacos del grupo de la belladona están ampliamente distribuidos en la naturaleza, sobre todo en las plantas de la familia Solanaceae. *Atropa belladonna* produce principalmente atropina (*dl*-hiosciamina). Se encuentra el mismo alcaloide en *Datura stramonium*, conocida también como Chamico y Estramonio. Químicamente son ésteres orgánicos formados por la combinación de un ácido aromático, el ácido trópico, y bases orgánicas complejas (Katzung, 2002).

Las plantas de la familia Solanaceae producen una variedad de alcaloides, algunos de innegable importancia terapéutica. En esta familia fue donde primero se encontraron los alcaloides de tropano y es la que ha recibido mayor atención, particularmente los géneros *Datura*, *Atropa*, *Scopolia*, de donde se extraen comercialmente los principales alcaloides de tropano de interés medicinal: atropina y escopolamina, inhibidores de los efectos muscarínicos de ACh, que bloquean sobre todo los órganos que reciben inervación parasimpática. Los efectos se manifiestan a nivel cardíaco, vascular, visceral (tracto digestivo y urinario), en las secreciones (digestivas, pancreáticas, sudorales y salivales), a nivel bronquial y ocular (Brachet y col., 1997).

Las plantas que contienen alcaloides de tipo 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 bradicardia severa, 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).

Algunos alcaloides naturales y semisintéticos aislados de solanáceas son de actual uso clínico: atropina, pseudoatropina, escopolamina, hioscina, hiosciamina, metil bromuro de anisotropina (Valpin®) y otros (Gringauz, 1997).

Las aurículas están abundantemente inervadas por fibras nerviosas parasimpáticas (vaginales) y, en consecuencia, el nodo sinoauricular es sensible al bloqueo de los receptores

muscarínicos. El efecto producido en el corazón inervado latiendo espontáneamente con dosis terapéuticas, moderadas o grandes de atropina es un claro bloqueo de la acción vagal y de una taquicardia relativa (Hardman y col., 2001).

Atropina aumenta la automaticidad del nodo SA y la velocidad de conducción en el nodo AV, tanto mayor sea el tono vagal basal del individuo; aumenta por lo tanto la frecuencia cardíaca y se acorta el espacio PR del electrocardiograma (Flórez, 2003)

Cuando la frecuencia cardíaca aumenta demasiado se reduce el tiempo de llenado diastólico, por lo tanto, disminuye el volumen por latido, de manera que el gasto cardíaco no aumenta en proporción con la frecuencia cardíaca. Este problema se encontró en las primeras versiones de los marcapasos que producían frecuencias ventriculares elevadas, limitando el llenado diastólico y, como consecuencia de ello, el gasto cardíaco caía por debajo de lo normal (Cunningham, 1999).

Los antagonistas de los receptores muscarínicos bloquean las reacciones del músculo del esfínter del iris y del músculo ciliar del cristalino a la estimulación colinérgica. Por lo tanto, dilatan la pupila (midriasis) y paralizan la acomodación (ciclopejía). 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, permanecen durante varios días (Hardman y col., 2001; Flórez, 2003).

Las plantas del género *Schizanthus*, pertenecientes a la familia Solanaceae, concentran una variada gama de bases de tipo esqueleto tropano (Muñoz, 1992). Este género incluye a doce especies originarias de Chile, con la excepción de *Schizanthus grahamii* cuya área de dispersión alcanza también a Argentina (Coccuci, 1989). Son conocidas más bien por sus características ornamentales. Algunas de las especies del género *Schizanthus* suelen ser conocidas por una serie de sinonimias comunes: “orquídea del hombre pobre”, “flor de pajarito”, “pajarito”, etc. (Muñoz, 1992).

Durante mucho tiempo la botánica clásica lo clasificó como un género monotípico de Chile, representante de la Familia Scrophulariaceae (Hunziker, 1979). Esta aseveración se mantuvo largo tiempo como un hecho establecido en los textos botánicos, ya que *Schizanthus* posee flores zigomorfas, característica no común de la familia Solanaceae, avalado por otra serie de características morfológicas, serológicas, inflorescencias, etc. (Grau y Gronbach, 1984; Grau, 1992).

Sin embargo, las evidencias de tipo químico descartaron tal posibilidad al demostrar que el género *Schizanthus* concentra una gran cantidad de alcaloides del tipo tropano, situación absolutamente ausente en la Familia Scrophulariaceae que suele caracterizarse por concentrar glicósidos cardiotónicos y otros (San Martín y col., 1980; Seigler, 1981; Gambaro y col., 1983).

Se han demostrado numerosos efectos biológicos para los alcaloides con esqueleto tipo tropano (Lounasmaa y Tamminen, 1993); sin embargo, ello no ha sido posible demostrar para las plantas chilenas, ni tampoco para las novedosas estructuras que ellas biosintetizan (Muñoz y col., 1994).

Los estudios químicos del género *Schizanthus* en Chile comenzaron con las investigaciones de Castillo y colaboradores a partir de los años 80 (San Martín y col., 1980; Gambaro y col., 1983). Se pudo inferir que el género acumula un amplio espectro de alcaloides derivados del tropano con estructuras únicas (San Martín y col., 1987; De la Fuente y col., 1988), con formación de mono y diésteres derivados principalmente de los ácidos angélico, tíglico, senecioico, itacónico y/o mesacónico; así como la síntesis de derivados higrina e higrolina (Gambaro y col., 1983).

Recientemente, una serie de compuestos que incluyen inéditos alcaloides diméricos de tropano y dos novedosas fenilamidas como mezclas de isómeros geométricos han sido aislados desde *Schizanthus litoralis* y *Schizanthus porrigens*, respectivamente (Muñoz y col., 1996).

En cuanto a la evaluación biológica del género *Schizanthus*, se han obtenido resultados con los extractos crudos de *Schizanthus hookeri* y *Schizanthus litoralis* en intestino aislado de rata. Este órgano es abundante en receptores colinérgicos muscarínicos lo que permitió probar la capacidad de estos extractos para inhibir la contracción muscular inducida con acetilcolina. En ambos casos, la inhibición observada se recupera con facilidad lo que supone que puede tratarse de un antagonismo competitivo y reversible. (Castillo, 2002; Mancilla, 2002).

Los receptores colinérgicos muscarínicos presentan diferente sensibilidad a la acción bloqueadora de un inhibidor: si se toma como prototipo a atropina, ésta muestra similar afinidad por los diferentes subtipos de receptores muscarínicos de proyección clínica denominados M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> y M<sub>3</sub>, lo cual es uno de los motivos de su amplio espectro de efectos y, por lo tanto, escasa selectividad y mayor ocurrencia de reacciones adversas. De lo anterior se puede colegir que los efectos de estas estructuras pueden variar en su selectividad y conjuntamente con la manifestación de la acción terapéutica deseada, se presenten concomitantemente efectos adversos (Hartmann y col., 1996; Katzung, 2002; Flórez, 2003).

Esto incentiva a investigar la química y farmacología de los alcaloides presentes en *Schizanthus tricolor* como una eventual fuente de novedosas estructuras con potencial acción selectiva.

### 3.1. HIPÓTESIS:

Los alcaloides presentes en el extracto de *Schizanthus tricolor* producen aumento de la presión arterial sistólica en ratas normotensas e hipertensas renovasculares.

### 3.2. OBJETIVOS:

El objetivo general de este estudio fue determinar el efecto de los alcaloides tipo tropano presentes en el extracto de *Schizanthus tricolor* sobre la presión arterial sistólica en ratas normotensas e hipertensas renovasculares.

Como objetivos específicos se plantearon los siguientes:

1. Evaluar la presión arterial sistólica en ratas normotensas e hipertensas renovasculares previo y posterior a la administración del extracto.
2. Evaluar el efecto de los alcaloides tipo tropano presentes en el extracto sobre el reflejo pupilar en ratas normotensas e hipertensas renovasculares.

## 4. MATERIAL Y MÉTODOS.

### 4.1 MATERIAL.

#### 4.1.1 Material biológico:

Se utilizaron 31 ratas machos cepa Sprague-Dawley (Anexo N° 1), procedentes del Bioterio de animales de experimentación del Instituto de Farmacología de la Universidad Austral de Chile con un peso de  $110,5 \pm 2,20$  g para la etapa de inducción de hipertensión arterial, y de  $306,6 \pm 5,52$  g para la etapa de valoración del efecto del extracto sobre la presión arterial (Anexo N° 2).

#### 4.1.2 Material farmacológico:

- Alcaloides tipo tropano  $3\alpha$ -senecioloxitropan  $6\beta$ -ol, 2-metil-2-butenoiloxitropan  $6\alpha$ -ol y  $3\alpha$ -tropanol, extraídos de la fracción polar de *Schizanthus tricolor*.<sup>1</sup>
- Sulfato de Atropina 1%.<sup>2</sup>
- 5-etil-5-(metilbutil) barbiturato sódico (Pentobarbital)<sup>3</sup> al 0,4% y 0,8%.
- Etanol 7%.<sup>4</sup>

#### 4.1.3 Materiales para la inducción de hipertensión:

- Material quirúrgico.
- Clamp de plata (con diámetro interno de 0,2 mm).
- Material de sutura.

#### 4.1.4 Materiales para medición de presión arterial:

- Equipo de ultrasonido Doppler<sup>5</sup>.
- Esfigmomanómetro.
- Gel de ultrasonido.
- Lámpara.
- Cubículo de inmovilización.
- Superficie temperada.

#### 4.1.5 Materiales para evaluación de reflejo pupilar

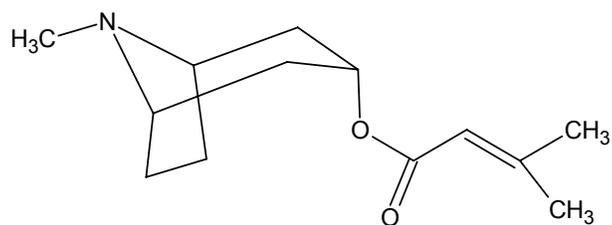
- Linterna oftálmica

<sup>1</sup> Proporcionados por el Dr. Orlando Muñoz, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

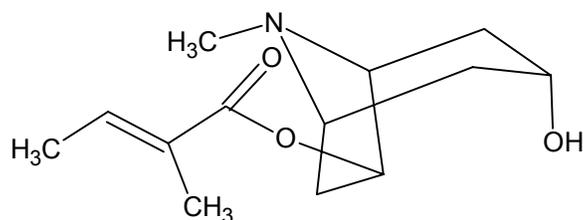
<sup>2-3</sup> Laboratorio Sigma.

<sup>4</sup> Laboratorio Equilab.

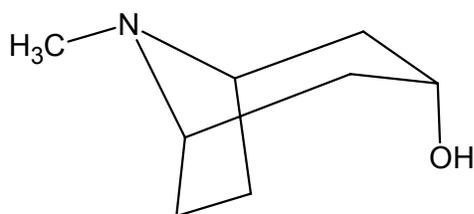
<sup>5</sup> Parks Medical Electronic B-811.



**Figura N° 1: 3 $\alpha$ -senecioloxitropan 6 $\beta$ -ol**  
(6-hydroxy-8-methyl-8-azabicyclo[3.2.1]oct-3-yl 3-methylbut-2-enoate. IUPAC)



**Figura N° 2: 2-metil-2-butenoiloxitropan 6 $\alpha$ -ol**  
(3-hydroxy-8-metil-8-azabicyclo[3.2.1]oct-6-yl (2E)-2-metilbut-2-enoate. IUPAC)



**Figura N° 3: 3 $\alpha$ -tropanol**  
(8-metil-8-azabicyclo[3.2.1]octan-3-ol. IUPAC).

## 4.2 MÉTODOS.

### 4.2.1 Condiciones experimentales

Las ratas fueron mantenidas en el bioterio en jaulas colectivas con alimento y agua, en un ambiente controlado con temperaturas entre 18 a 22 °C y con ciclos de luz-oscuridad de 12 horas.

El pesaje de las ratas se realizó, cada vez que se administró el extracto, en una balanza digital <sup>1</sup> con un rango de discriminación de  $\pm 0,1$  g. El peso se expresó en gramos.

Una vez finalizado el experimento se procedió a la eutanasia de las ratas con una sobredosis anestésica (Pentobarbital 80 mg/kg de peso vía intraperitoneal).

### 4.2.2. Períodos experimentales:

#### 4.2.2.1. Período de inducción (PI) de hipertensión arterial mediante el método de Goldblatt dos riñones una pinza. (Goldblatt y col., 1934; Leenen y De Jong, 1971; Gómez, 1988; Sánchez, 1988; Améstica, 2000; Gallardo, 2001 y Barría, 2003)

Previo a la cirugía las ratas fueron sometidas a un ayuno de 24 horas. Transcurrido dicho período, se pesaron y anestesiaron con Pentobarbital en concentración de 4,0 mg/ml y en dosis de 40 mg/kg, vía intraperitoneal (ip).

El modelo Goldblatt dos riñones una pinza se aplicó a ratas de aproximadamente 110 g a través de una intervención quirúrgica, realizando una incisión dorsal paramedial, entre las vértebras T10 y L3, para abordar el riñón izquierdo. Se desnudó la arteria renal y se colocó un clamp de plata lo más cercano posible al nacimiento aórtico de la arteria renal (Anexo N° 3). El riñón contra lateral no fue manipulado.

Posterior a la intervención quirúrgica las 15 ratas tuvieron libre acceso a agua y alimento, tratando de evitar perturbaciones, para permitir el establecimiento de la hipertensión arterial.

En la 8ª semana posterior a la intervención quirúrgica se determinó diariamente por 3 días la presión arterial con la finalidad de verificar si las ratas habían desarrollado hipertensión. Se consideraron hipertensas las ratas que presentaron PAS igual o superior a 150 mm Hg.

---

<sup>1</sup> Soehnle.

#### **4.2.2.2. Período de valoración del efecto del extracto (PVEE) de *Schizanthus tricolor* sobre la presión arterial en ratas normotensas e hipertensas renovasculares (días 1 a 6).**

Se constituyeron al azar 2 series experimentales de 10 ratas cada una:

Serie 1: Ratas normotensas, tratadas con extracto de *Schizanthus tricolor*.

Serie 2: Ratas hipertensas renovasculares, tratadas con extracto de *Schizanthus tricolor*.

El extracto se administró diariamente vía ip en dosis de 20 mg/kg y en volumen de 0,5 ml/100 g de peso vivo.

La PAS se midió día por medio (días 2, 4 y 6), 15 minutos previo y 15 minutos posterior a la administración del extracto, utilizando el método Doppler. Además, se midió la PAS a ambas series antes de dar inicio al tratamiento (día 1), con el objeto de obtener valores basales (controles) de la PAS.

No se consideró una serie control con etanol, (diluyente del extracto) para evaluar su efecto sobre presión arterial, debido a que Figueroa (1993) demostró que la administración de etanol al 9,6% en dosis de 0,5 ml/100 g de peso vivo vía ip no produjo diferencias estadísticamente significativas en la presión arterial sistólica y diastólica de ratas normotensas.

#### **4.2.2.3. Período post tratamiento (PPT)**

En este período se suspendió la administración del extracto y se midió diariamente durante tres días consecutivos la presión arterial, para evaluar la mantención del efecto del extracto sobre la presión arterial.

#### **4.2.2.4. Evaluación del efecto de alcaloides tipo tropano de *Schizanthus tricolor* y atropina sobre el reflejo pupilar.**

Se realizó un período pre-experimental en el cual se observó la función pupilar en respuesta a un estímulo de luz mediante el empleo de una linterna oftalmológica. Esta se evaluó como: presente o ausente.

A 6 ratas normotensas se les administró vía ip sulfato de atropina al 1‰ en dosis de 1 mg/kg de peso vivo y a otras 3 extracto de *Schizanthus tricolor*, luego se procedió a observar la pérdida de reflejo pupilar para evaluar la posible actividad atropínica del extracto. Además, se midió el tiempo de instauración de midriasis, con la finalidad de establecer el momento de máxima actividad farmacológica para realizar en este momento la medición de la PAS.

### 4.3. Procedimiento estadístico:

Los resultados obtenidos en este estudio fueron expresados como medias aritméticas y su error típico, efectuándose pruebas inferenciales intraseries, paramétricas y no paramétricas. Se trabajó con un nivel de significación de 0,05 considerándose  $p \leq 0,05$  como significativo.

La metodología estadística aplicada en el análisis de los datos se detalla a continuación:

- a) Prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov, la que se utilizó 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, la que se utilizó 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  $t$  de Student no cumplía con los requisitos de homocedasticidad de las varianzas.

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

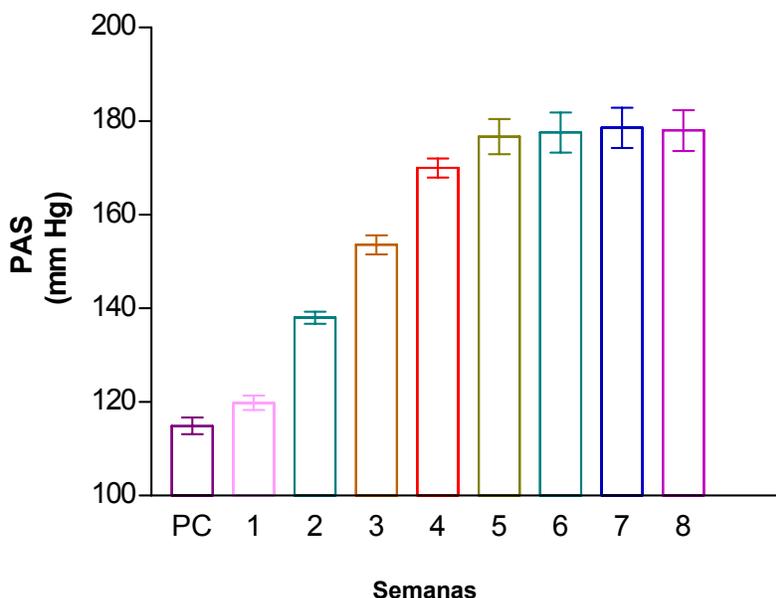
## 5. RESULTADOS.

El análisis estadístico de los valores de presión arterial sistólica (PAS) producto de la administración intraperitoneal de extracto de *Schizanthus tricolor* a ratas normotensas (serie 1) e hipertensas renovasculares (serie 2) se presentan a continuación ordenados por período experimental y por momento de medición de la PAS.

### 5.1. PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA (PAS)

#### 5.1.1 Promedio de presión arterial sistólica (PASP) en el período de inducción de hipertensión arterial (PI) con la técnica Goldblatt dos riñones una pinza (análisis intraseries).

Durante este período se aprecia un aumento de la PASP de  $119,8 \pm 1,82$  mm Hg en la primera semana a  $138,0 \pm 1,26$  mm Hg en la segunda semana. Las ratas presentaron hipertensión a partir de la tercera semana, con valores de PASP de  $153,6 \pm 2,04$  mm Hg (Gráfico N° 1, Anexo N° 5).

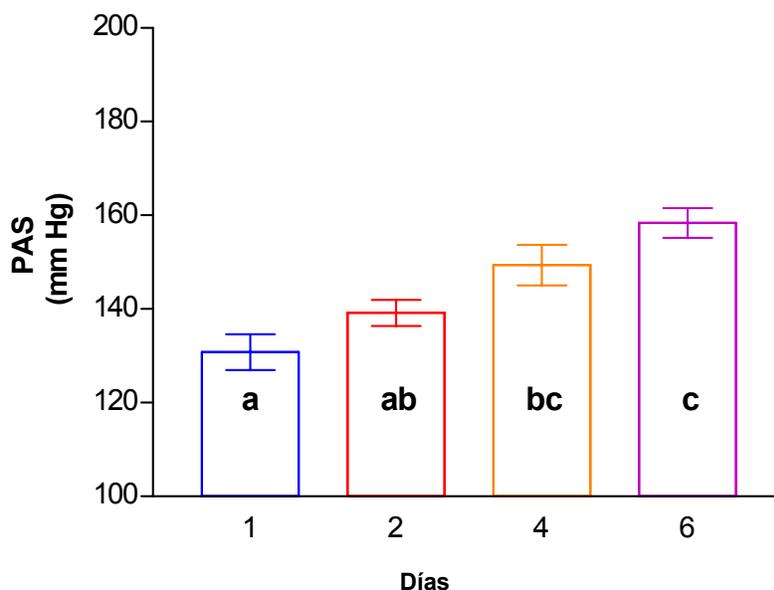


**Gráfico N° 1:** Promedio de PAS en mm Hg ( $\pm$  E.E.) en ratas pre-cirugía (PC) y durante el período de inducción de hipertensión arterial (PI) con la técnica Goldblatt dos riñones una pinza.

### 5.1.2.1. Promedio de presión arterial sistólica (PASP) en el período de valoración del efecto del extracto (PVEE) de *Schizanthus tricolor* 15 minutos previo a su administración (análisis intraseries).

#### Ratas normotensas:

En el PVEE se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre el día 1 y los días 4 y 6; y entre el día 2 con el día 6. Esto permite apreciar que hubo aumento de PASP progresiva desde  $130,8 \pm 3,84$  mm Hg el día 1 hasta  $158,4 \pm 3,15$  mm Hg el día 6 (Gráfico N°2, Anexo N°6).



**Gráfico N° 2:** Promedio de PAS ( $\pm$  E.E.) en ratas normotensas (serie 1) en el período de valoración del efecto del extracto (PVEE) de *Schizanthus tricolor* 15 minutos previo a su administración. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ).

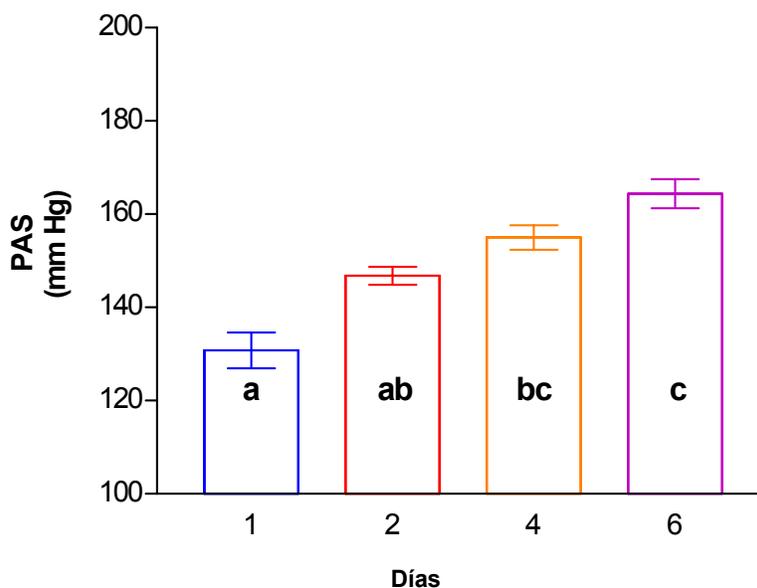
#### Ratas hipertensas:

En el PVEE al realizar el análisis intraseries no se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) entre mediciones de presión arterial sistólica promedio (PASP) (Anexo N° 7, Anexo N° 8).

### 5.1.2.2. Promedio de presión arterial sistólica (PASP) en el período de valoración del efecto del extracto (PVEE) de *Schizanthus tricolor* 15 minutos posterior a su administración (análisis intraseries).

#### Ratas normotensas:

En el PVEE se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre el día 1 y los días 4 y 6; y entre el día 2 y el día 6. Esto permite apreciar que hubo aumento de PASP progresiva desde el segundo día de iniciado el tratamiento (Gráfico N° 3, Anexo N° 9).



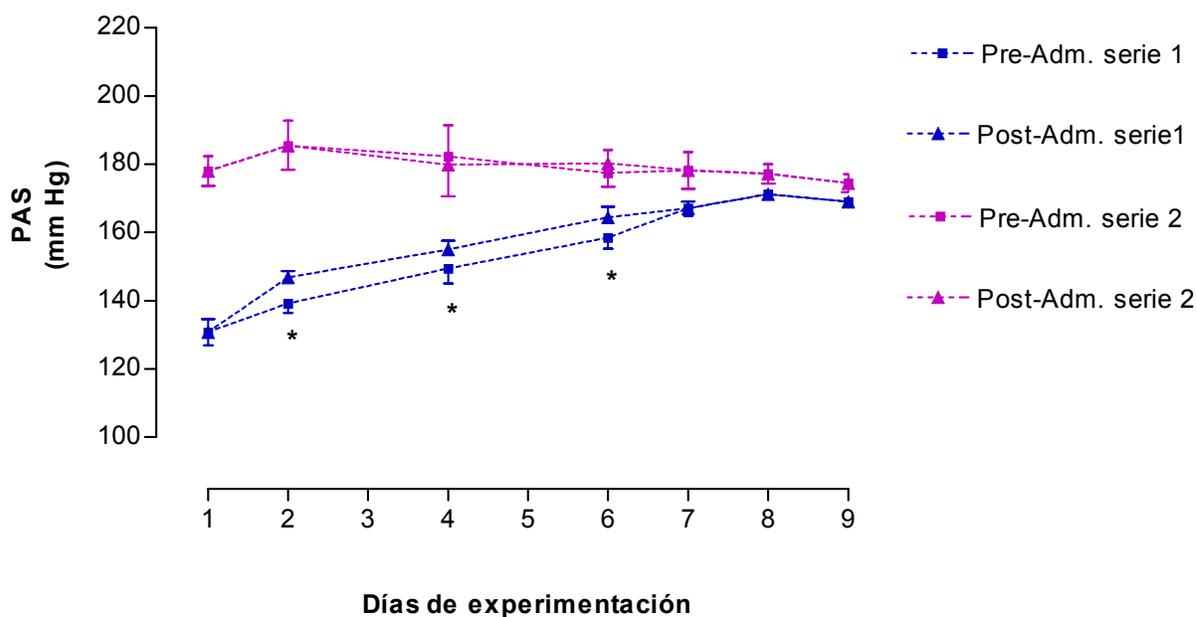
**Gráfico N° 3:** Promedio de PAS ( $\pm$  E.E.) en ratas normotensas (serie 1) en el período de valoración del efecto del extracto (PVEE) de *Schizanthus tricolor* 15 minutos posterior a su administración. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ).

#### Ratas hipertensas:

En el PVEE al realizar el análisis intraseries los días de medición no se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) entre mediciones de presión arterial sistólica promedio (PASP) (Anexo N° 10, Anexo N° 11).

**5.1.2.3. Variación de la presión arterial sistólica promedio (PASP) en ratas normotensas e hipertensas renovasculares durante el período de valoración del efecto del extracto (PVEE) de *Schizanthus tricolor* 15 minutos previo y 15 minutos posterior a su administración, y durante el período post-tratamiento (PPT) días 7, 8 y 9.**

En el PVEE al realizar el análisis intraseries se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre la medición previa y posterior de PAS en ratas normotensas (serie1) (Anexo N° 12), no así en ratas hipertensas (serie 2) (Anexo N° 13).

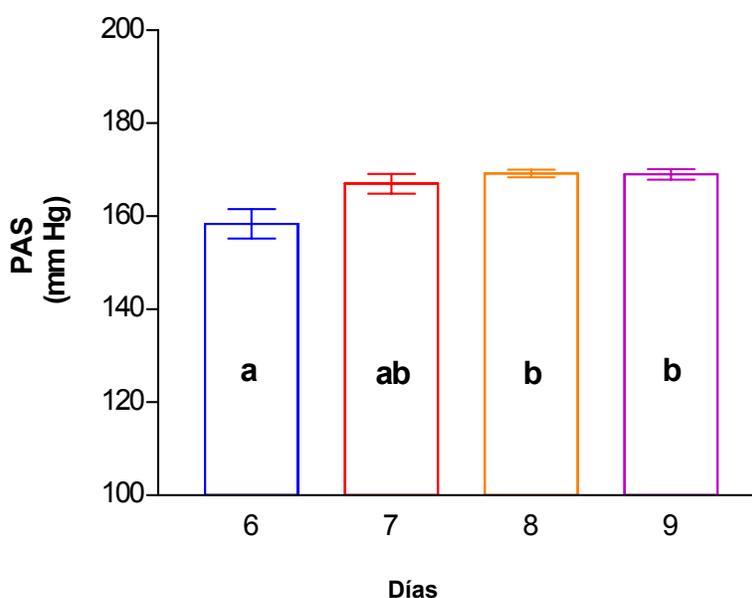


**Gráfico N° 6:** Promedio de PAS en ratas normotensas (serie 1) e hipertensas renovasculares (serie 2), en el período de valoración del efecto del extracto (PVEE) de *Schizanthus tricolor* 15 minutos previo y 15 minutos posterior a su administración, y durante el período post-tratamiento (PPT). Asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre la medición previa y posterior a la administración del extracto.

**5.1.3.1. Promedio de presión arterial sistólica (PASP) del día 6, último día del período de valoración del efecto del extracto (PVEE) de *Schizanthus tricolor* 15 minutos previo a su administración y durante el período post-tratamiento (PPT) días 7, 8 y 9 (análisis intraseries).**

**Ratas normotensas:**

En el PPT al realizar el análisis intraseries se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre el día 6 y los días 8 y 9. Esto permite apreciar que hubo aumento de PASP progresiva desde  $158,4 \pm 3,15$  mm Hg el día 6 hasta  $175,6 \pm 2,21$  mm Hg el día 8 (Gráfico N° 7, Anexo N°14).



**Gráfico N° 7:** Promedio de PAS ( $\pm$  E.E.) en ratas normotensas (serie 1) el día 6, último día del período de valoración del efecto del extracto (PVEE) de *Schizanthus tricolor* 15 minutos previo a su administración y durante el período post-tratamiento (PPT). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ).

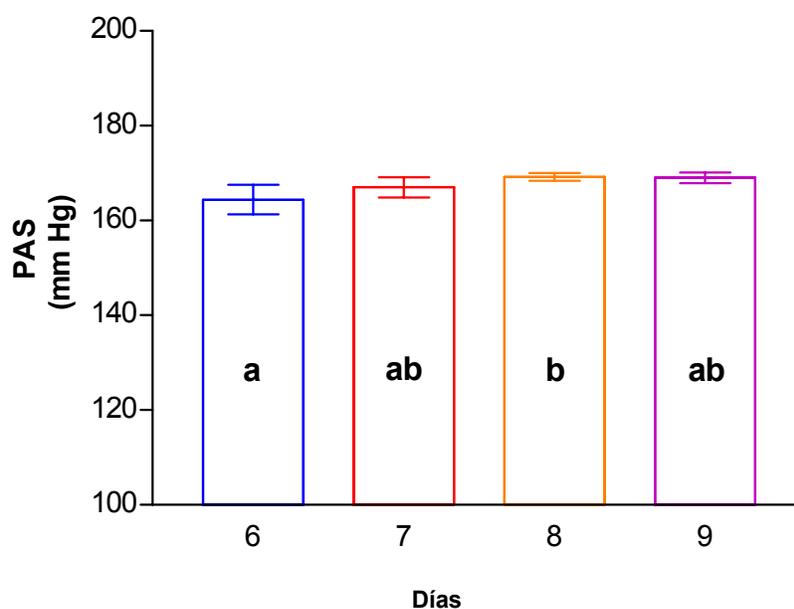
**Ratas hipertensas:**

En el PPT al realizar el análisis intraseries entre el día 6 y los días 7, 8 y 9 no se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) entre mediciones de presión arterial sistólica promedio (PASP) (Anexo N° 15, Anexo N° 16).

**5.1.3.2. Promedio de presión arterial sistólica (PASP) del día 6, último día del período de valoración del efecto del extracto de *Schizanthus tricolor* (PVEE) 15 minutos posterior a su administración y durante el período post-tratamiento (PPT) días 7, 8 y 9 (análisis intraseries).**

**Ratas normotensas:**

En el PPT al realizar el análisis intraseries se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre el día 6 y el día 8. Esto permite apreciar que hubo aumento de PASP progresiva desde  $164,4 \pm 3,11$  mm Hg el día 6 hasta  $175,6 \pm 2,21$  mm de Hg el día 8 (Gráfico N° 8, Anexo N° 17).



**Gráfico N° 8:** Promedio de PAS ( $\pm$  E.E.) en ratas normotensas (serie 1) el día 6, último día del período de valoración del efecto del extracto (PVEE) de *Schizanthus tricolor* 15 minutos posterior a su administración y durante el período post-tratamiento (PPT). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ).

**Ratas hipertensas:**

En el PPT al realizar el análisis intraseries entre el día 6 y los días 7, 8 y 9 no se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) entre mediciones de presión arterial sistólica promedio (PASP) (Anexo N° 18, Anexo N° 19).

## 5.2. Evaluación del efecto de alcaloides tipo tropano presentes en el extracto de *Schizanthus tricolor* sobre el reflejo pupilar.

La aplicación de extracto de *Schizanthus tricolor* en dosis de 20 mg/kg vía ip no produjo modificación del reflejo pupilar frente al estímulo luminoso en ambas series.

Rata	Atropina	<i>Schizanthus tricolor</i>	
	Pre-experimental	Normotensas	Hipertensas
1	Ausente	Presente	Presente
2	Ausente	Presente	Presente
3	Ausente	Presente	Presente
4	Ausente	Presente	Presente
5	Ausente	Presente	Presente
6	Ausente	Presente	Presente
7	----	Presente	Presente
8	----	Presente	Presente
9	----	Presente	Presente
10	----	Presente	Presente

## 6. DISCUSIÓN.

La determinación de efectos cardiovasculares es de especial importancia, en el caso de los alcaloides tipo tropano provenientes del género *Schizanthus*, ya que podrían tener un efecto bloqueador colinérgico disminuyendo la acción vagal cardíaca, condicionando un predominio simpático con efecto cronótropo e inótropo positivo, lo que aumentaría el débito cardíaco e incrementaría la presión arterial (Ahumada y col. 1991).

Estos estudios se pueden realizar mediante registros poligráficos tradicionales o con poligrafía computarizada en ratas normotensas anestesiadas, lo que permite obtener en forma aguda e invasiva registros de presión arterial y electrocardiográficos. 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 en animales concientes (Pedraza-Chaverri y col., 1998).

### 6.1. PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA.

En la literatura se mencionan valores de presión arterial sistólica promedio (PASP) normal de 141 mm Hg (Baker y col., 1979), de 110 mm Hg (Farris y Griffith, 1996). En trabajos efectuados en ratas en la Universidad Austral de Chile (UACH) se mencionan valores de presión arterial sistólica promedio (PASP) normal, de 127,5 mm Hg (Sánchez, 1988), de  $121,7 \pm 2,90$  mm Hg (Olhaberry, 1992), de  $148,0 \pm 2,10$  mm Hg (Álvarez, 1996), de  $126,7 \pm 4,14$  mm Hg (Mieres, 1998), de  $140,0 \pm 6,18$  mm Hg (Palma, 2000).

En este trabajo se obtuvieron, con el método Doppler, valores de PASP de  $114,9 \pm 1,81$  mm Hg en ratas normotensas concientes de  $110,5 \pm 2,20$  g de peso previo a la aplicación del método Goldblatt dos riñones una pinza, valores similares a los obtenidos por Gallardo (2001) y Barría (2003) en ratas de similar peso y utilizando el mismo método de medición. Previo al inicio del tratamiento se obtuvieron valores de PAS de  $130,8 \pm 3,84$  mm Hg en ratas normotensas de  $306,6 \pm 5,52$  g de peso (Anexo N° 2). Dichos valores se encuentran dentro de los rangos antes mencionados y también de los obtenidos por otros estudios realizados en el Instituto de Farmacología de la UACH en los cuales se utilizó el mismo método para evaluar la PAS en ratas normotensas concientes, obteniéndose valores de  $127,2 \pm 0,53$  mm Hg (Cárcamo, 2000),  $135,0 \pm 1,62$  mm Hg (Pantanalli, 2001),  $134,6 \pm 4,28$  mm Hg (Yutronic, 2001) y de  $131,2 \pm 1,37$  mm Hg (Torres, 2002).

### **6.1.1. Período de inducción de hipertensión arterial (PI) mediante el método Goldblatt dos riñones una pinza y período de verificación de establecimiento de hipertensión arterial.**

Desde que Goldblatt realizó experimentos en perros se demostró que la presión arterial asciende cuando se efectúa estenosis de una o ambas arterias renales. Cualquiera sea la variedad de hipertensión arterial sistémica renovascular, el sistema renina-angiotensina-aldosterona está hiperactivo y contribuye a perpetuar el ciclo de la hipertensión (Ramiro y col., 2002).

Los valores de PAS obtenidos en ratas hipertensas renovasculares en la 7<sup>a</sup> semana ( $178,0 \pm 4,29$  mm Hg) y en la 8<sup>a</sup> semana ( $178,6 \pm 4,37$  mm Hg) son similares a los obtenidos por otros autores que también utilizaron el método Goldblatt para inducir hipertensión arterial en ratas y Doppler para su medición. Al respecto Vio y col. (1980) obtuvieron valores de PAS de  $178,3 \pm 4,9$  mm Hg a  $195,0 \pm 6,2$  mm de Hg, entre la 5<sup>a</sup> a 15<sup>a</sup> semana posterior a la cirugía. Barría (2003) utilizando un clamp con un diámetro interno de 0,2 mm obtuvo valores de PAS de  $183,4 \pm 6,39$  mm Hg en la 7<sup>a</sup> semana. Gallardo (2001) utilizando un clamp con un diámetro interno de 0,3 mm obtuvo valores de PAS de  $151 \pm 1,32$  mm Hg en la 7<sup>a</sup> semana y de  $153,5 \pm 1,00$  mm Hg en la 8<sup>a</sup> semana, valores inferiores a los obtenidos en este trabajo.

Las diferencias de PAS en los trabajos anteriormente citados se explicaría por la diferencia de diámetro del clamp utilizado y el diámetro de la arteria a comprimir; al respecto DiPette (1999) y Al-Qattan (2001) indican que a medida que se disminuye el diámetro del clamp, aumenta el grado de constricción de la arteria renal y se obtienen valores más altos de PAS y en un tiempo menor.

Antecedentes bibliográficos indican que el modelo Goldblatt dos riñones una pinza presenta un alto riesgo de mortalidad posterior a la cirugía; además de una gran variabilidad en la inducción de hipertensión arterial, motivo por el cual Gómez (1988), Sánchez (1988), utilizaron aproximadamente el doble de las ratas para inducir hipertensión arterial, sin embargo, Améstica (2000), Gallardo (2001) y Barría (2003) obtuvieron 100%, 80% y 88% de éxito respectivamente en lograr ratas hipertensas. En este trabajo se sometió a cirugía a 15 ratas de las cuales 14 presentaron hipertensión arterial a la 3<sup>a</sup> semana post-cirugía, alcanzando valores de PAS iguales o superiores a 153 mm Hg.

### **6.1.2. Período de valoración del efecto del extracto (PVEE) de *Schizanthus tricolor* sobre la presión arterial en ratas normotensas e hipertensas renovasculares.**

Castillo (2002) y Mancilla (2002) en sus trabajos con íleon de rata, demostraron la capacidad de los alcaloides tipo tropano presentes en plantas del género *Schizanthus*, de inhibir la acción de agentes colinérgicos.

No se encontraron referencias bibliográficas de *Schizanthus tricolor* o de alcaloides tipo tropano de esta planta relacionados con efectos sobre el sistema cardiovascular y la presión arterial, pero sí de atropina, la cual es considerada como prototipo del grupo. Las acciones y los efectos de la mayor parte de los antagonistas de los receptores muscarínicos con

que se cuenta en clínica difieren sólo en un sentido cuantitativo de los de atropina (Hardman y col., 2001).

Considerando que los efectos biológicos de atropina sobre el sistema cardiovascular radicarían en su actividad anticolinérgica sería posible comparar la acción de ésta con *Schizanthus tricolor*.

#### 6.1.2.1. Ratas normotensas:

La administración de extracto de *Schizanthus tricolor* produjo en las ratas normotensas un aumento significativo de la PAS. En el momento previo a la administración del extracto hubo un aumento de la PAS de 27,6 mm Hg. En las mediciones posteriores a la administración del tratamiento se logró un aumento progresivo de 33,6 mm Hg de la PAS lo que sugiere un posible efecto acumulativo de los alcaloides presentes en el extracto.

Cabello\* (2003) induciendo hipertensión con el método L-NAME y administrando extracto de *Schizanthus litoralis* vía oral obtuvo aumentos estadísticamente significativos de la PAS de 12,6 mm Hg en el momento previo a la administración del extracto. En el momento posterior a la administración del extracto no obtuvo diferencias estadísticamente significativas. Las diferencias en los resultados obtenidos se deberían que este autor utilizó una dosis de extracto menor (10 mg/kg) por vía oral, y la absorción digestiva de extracto debería ser inferior a la absorción intraperitoneal.

Herrera (2003) utilizando extracto de *Schizanthus grahamii* en dosis de 100 mg/kg e igual método experimental y vía de administración que Cabello (2003), no obtuvo diferencias estadísticamente significativas sobre la PAS en ratas normotensas e hipertensas. Al no producirse en este estudio cambios en la PAS, se sugiere carencia de actividad intrínseca (Ponce, 2002).

Los efectos inhibitorios sobre la relajación de anillos de aorta de rata inducida por carbacol demostrados por Gottschalk (2003) para los alcaloides tipo tropano extraídos de *Schizanthus grahamii* podrían estar dados por sus propiedades anticolinérgicas. Esto basado en la capacidad de unirse a receptores colinérgicos, tanto muscarínicos como nicotínicos (Schmeller y col., 1995), y a las propiedades anticolinérgicas descritas para estos alcaloides, como es el caso de atropina y escopolamina (Flórez, 2003).

El aumento de la PAS obtenida en este estudio se debería a la posible acción antimuscarínica de los alcaloides tipo tropano de *Schizanthus tricolor* sobre los receptores muscarínicos M<sub>3</sub> de los vasos sanguíneos.

---

\*Comunicación personal: Srta. Daniela Cabello. Universidad Austral de Chile. Instituto de Farmacología. Valdivia. Chile.

Los efectos de los agonistas muscarínicos como el carbacol o acetilcolina sobre el tono de la musculatura lisa vascular con endotelio intacto, están dados por su acción sobre receptores muscarínicos, especialmente M<sub>3</sub> ubicado a nivel endotelial. La activación de estos receptores lleva a una relajación endotelio dependiente producida principalmente por la liberación de factores relajantes derivados del endotelio como óxido nítrico. Estos receptores, son bloqueados fácilmente por atropina (Neelam y col., 1991; Katzung, 2002).

Las aurículas están abundantemente inervadas por fibras nerviosas parasimpáticas (vagales) y, en consecuencia, el nodo sinoauricular es sensible al bloqueo de los receptores muscarínicos. El efecto principal de atropina en el corazón en dosis altas consiste en alterar la frecuencia cardíaca, originando taquicardia relativa al bloquear los efectos vagales sobre los receptores M<sub>2</sub> del marcapaso nodal sinoauricular. A dosis clínicas, la atropina contrarresta la vasodilatación periférica y la disminución aguda de la presión arterial (Hardman y col., 2001).

Tsukamoto y Matsui (1994), en experimentos con ratas anestesiadas utilizando dosis altas de atropina, lograron aumentos significativos de la presión arterial suprimiendo la acción vasodilatadora de acetilcolina.

Poollock y col. (2002) trabajaron in vitro segmentos de arteria pulmonar de rata en baño de órgano aislado para evaluar la acción de atropina, utilizando concentraciones crecientes de ésta, contrarrestando la acción vasodilatadora de acetilcolina, efecto que tendió a disminuir al remover el endotelio. Posiblemente este efecto se relacionaría con la acción antimuscarínica de atropina en los receptores muscarínicos endoteliales, aumentando de este modo la presión arterial.

De acuerdo a lo citado anteriormente en trabajos realizados con atropina sobre el sistema cardiovascular, y de la similitud de este alcaloide con los alcaloides tipo tropano de *Schizanthus tricolor*, se podría deducir que los alcaloides presentes en el extracto aplicado a ratas normotensas producen un aumento de la presión arterial sistólica debido a su probable actividad antimuscarínica.

#### **6.1.2.2. Ratas hipertensas:**

La administración del extracto de *Schizanthus tricolor* no generó diferencias significativas en la PAS de las ratas hipertensas.

Cabello (2003) aplicando extracto de *Schizanthus litoralis* obtuvo disminución estadísticamente significativa de la PAS de 23 mm Hg, en el momento posterior a la administración del extracto en ratas hipertensas L-NAME. Esto se puede explicar debido a que el método de inducción de hipertensión utilizado por este autor provoca un desbalance entre el óxido nítrico (ON) y Angiotensina II de manera aguda y reversible (Moncada y col., 1991).

La ausencia de diferencias estadísticamente significativas en este estudio se puede explicar a que en pacientes con hipertensión de tipo crónico, el endotelio coronario y extracoronario tiene disminuida su capacidad de inducir la relajación vascular debido a una

respuesta deteriorada o a la inactivación creciente del ON. La disfunción endotelial puede desempeñar así un papel dominante en complicaciones del miocardio, cerebrales, y renales del paciente hipertenso (Perticone y col., 2001).

La hipertensión arterial produce un efecto de estrés sobre las células endoteliales vasculares, alterando la producción o la liberación de diversas sustancias vasoactivas. El tono liso vascular es regulado continuamente por un equilibrio delicado entre la vasodilatación (óxido nítrico, prostaciclina, y factor hiperpolarizante derivado del endotelio) y la vasoconstricción (endotelina-1, tromboxano A<sub>2</sub>, prostaglandina H<sub>2</sub> y anión superóxido) (Taddei y col., 1997; Katzung, 2002; Poredos, 2002).

El endotelio vascular es un tejido esencial que ejerce un rol muy importante en el sistema cardiovascular. Controla no sólo el tono del músculo liso sino que también modula otras funciones tales como la cascada de la coagulación, la permeabilidad vascular y la proliferación de las células lisas vasculares, fenómeno conocido como autorregulación estructural el cual conduce al mantenimiento de la hipertensión (Forte y Nigel, 2001; Perticone y col., 2001).

La disfunción endotelial, se manifiesta como una pérdida de la función de barrera selectiva vascular, mayor tendencia a la agregación plaquetaria y a la trombosis, a la adherencia de leucocitos, vasoconstricción y migración de las células musculares lisas. Además, se caracteriza por una respuesta de vasodilatación deteriorada a la ACh. Se ha demostrado que la disfunción endotelial progresa con la duración de la hipertensión arterial y que además existe una correlación positiva entre ambas (Taddei y col., 1996; Cooke y Frohlich, 1997; Poredos, 2002).

El ON, desempeña un papel muy importante en la regulación de la función renal. Su síntesis se produce a partir del aminoácido L-arginina por acción de la enzima óxido nítrico sintetasa (ONS), está implicado en la regulación de la eliminación de sodio durante las elevaciones de la presión arterial y del volumen extracelular (Kaplan y col., 1999; Katzung, 2002).

En resumen, el alza crónica de la presión arterial acelera el proceso de envejecimiento de los vasos a través de: 1) depósito de tejido fibroso en las paredes arteriales y arteriolas, que estrechan su lumen causando un aumento de la resistencia periférica. 2) disfunción endotelial, que favorece el depósito de lípidos, la penetración de macrófagos en la pared vascular y la formación de las placas de ateroma. La disfunción endotelial inducida por la elevación de la presión arterial puede facilitar el desarrollo de otras complicaciones cardiovasculares, tales como aterosclerosis (Rojas, 2000).

En relación a lo anteriormente citado, se puede considerar que la ausencia de efecto antihipertensivo del extracto en las ratas tratadas se debería a una alteración en los vasos sanguíneos, producto del tiempo prolongado durante el cual estuvieron sometidas a la hipertensión renovascular.

### 6.1.3. Período post-tratamiento (PPT).

El propósito de medir la PAS en este período fue evaluar el posible efecto residual de los alcaloides presentes en el extracto de *Schizanthus tricolor*. Los valores de PAS obtenidos señalan diferencias estadísticamente significativas para las ratas normotensas, en las cuales el efecto residual del extracto se mantiene durante los dos primeros días de seguimiento, observándose una leve disminución de la PAS el tercer día (Anexo N° 14, Anexo N° 17). Los valores de PAS en las ratas hipertensas no arrojaron diferencias estadísticamente significativas, pero sí es posible apreciar una tendencia a la disminución de la presión arterial.

Similares resultados obtuvo Zamora\* (2003) aplicando extracto de *Schizanthus grahamii*. Este autor no obtuvo diferencias estadísticamente significativas en las mediciones de PAS en ratas hipertensas renovasculares, pero sí en las ratas normotensas, en las cuales obtuvo incremento significativo de la PAS hasta el segundo día.

No se encontraron referencias bibliográficas en relación con el efecto residual del extracto de *Schizanthus tricolor*.

En el Instituto de Farmacología de la Universidad Austral de Chile se ha evaluado el efecto residual en ratas hipertensas para otros extractos de origen vegetal, lográndose una persistencia del efecto de un día administrando extracto de *Allium ampeloprasum* (Ajo chilote) (Gallardo, 2001), de dos días aplicando extracto n-butanólico de *Tristerix (Phrgilanthus) tetrandus* (Torres, 2002), y de un día administrando extracto de raíz de *Muehlenbeckia hastulata (Voqui Negro o Quilo)* (Barría, 2003).

En este trabajo se mantiene el efecto del extracto por dos días apreciándose una leve disminución de la PAS el último día de seguimiento, por lo tanto, sería recomendable extender el período post-tratamiento para poder determinar con exactitud el efecto del extracto sobre la PAS en un período de tiempo mayor.

---

\*Comunicación personal: Srta. Marisol Zamora. Universidad Austral de Chile. Instituto de Farmacología. Valdivia.Chile.

## 6.2. Evaluación del efecto de alcaloides tipo tropano de *Schizanthus tricolor* sobre el reflejo pupilar

Atropina administrada en dosis de 1 mg/kg de peso vivo vía ip produjo pérdida del reflejo pupilar a los 15 minutos durante el período pre-experimental de este trabajo. Sin embargo, la administración del extracto de *Schizanthus tricolor* no generó este efecto en la dosis y vía administrada. Esto podría deberse a que la dosis administrada o a que los alcaloides tipo tropano presentes en el extracto no tuvieran la misma actividad que atropina a nivel ocular.

El interés en los efectos y posibles beneficios de ciertas sustancias purificadas, llevan a un desarrollo paralelo en la demanda de consumo para estas sustancias. Existe mucha información acerca del uso histórico y eficacia de los productos botánicos; sin embargo, la calidad de esta información es muy variable (Katzung, 2002).

*Schizanthus tricolor* es exclusivo de Chile, y es conocido más bien por sus características ornamentales que por sus propiedades químicas o su potencial aplicabilidad medicinal. El desarrollo de este trabajo permitirá ampliar la información sobre las propiedades farmacológicas de esta planta como una posible fuente de estructuras con una acción selectiva; y de esta manera, en conjunto con nuevas experiencias sobre este tema poder acceder a la elaboración de medicamentos más seguros y con menores efectos adversos que puedan aportar beneficios tanto a la medicina veterinaria como humana.

### 6.3. CONCLUSIONES.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo, en relación a la administración de los alcaloides extraídos de las partes aéreas de la planta de la especie *Schizanthus tricolor*, diluidos en etanol 7%, administrados en dosis de 20 mg/kg por vía intraperitoneal, en volumen de 0,5 ml/100 g de peso vivo, a ratas normotensas e hipertensas renovasculares inducidas por el modelo Goldblatt dos riñones una pinza se concluye que:

1. Los alcaloides utilizados producen aumento significativo de la presión arterial sistólica en ratas normotensas.
2. Los alcaloides utilizados no producen aumento significativo de la presión arterial sistólica en ratas hipertensas renovasculares.
3. Los alcaloides utilizados no producen pérdida del reflejo pupilar en ratas normotensas e hipertensas renovasculares.

De acuerdo a los resultados obtenidos se acepta de la hipótesis planteada que: “Los alcaloides presentes en el extracto de *Schizanthus tricolor* producen aumento de la presión arterial sistólica en ratas normotensas”.

## 7. BIBLIOGRAFIA.

- AHUMADA, F., F. ASPEE, G. WIKMAN, J. L. HANCKE. 1991. *Whitania somnifera* extract. Its effect on arterial blood pressure in anaesthetised dogs. *Phytotherapy res.* 5: 111-114.
- AL-QATTAN, K. K. 2001. Different levels of hypertension induce opposite diuretic behaviors from the nonclipped kidney in the rat two-kidney, one-clip model. *Kidney Blood Pressure Res.* 24: 200-206.
- ÁLVAREZ, H. 1996. Efecto del extracto de *Durvillaea antarctica* sobre la presión arterial, frecuencia cardíaca y respiratoria en ratas. Tesis, M. V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- AMÉSTICA, L. 2000. Valoración del efecto sobre la presión arterial y frecuencias cardíaca y respiratoria del extracto acuoso liofilizado de *Stachytarpheta cayennensis*, administrado por vía intraperitoneal, en ratas anestesiadas, normotensas e hipertensas renovasculares. Tesis, M. V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- BAKER, H. J., J. R. LINDSEY, S. H. WEISBROTH. 1979. The Laboratory Rat. Vol. I, 2<sup>nd</sup> ed., Academic Press, Inc. New York. United States of America.
- BARRÍA, C. 2003. Efecto antihipertensivo del extracto de raíz de *Muehlenbeckia hastulata* (Voqui Negro o Quilo), en ratas hipertensas renovasculares. Memoria de título, M. V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- BEERS, M., R. BERKOW. 1999. Manual Merck de Diagnóstico y Tratamiento. 10<sup>a</sup> ed., Harcourt. Madrid. España.
- BRACHET, A., O. MUÑOZ, M. GUPTA, J. L. VEUTHEY, PH. CHRISTEN. 1997. Alkaloids of *Erithroxylum lucidum* Stem-Bark. *Phytochemistry.* 46:1439-1442.
- BRUNING, T. A., M. G. C. HENDRIKS, P. C. CHANG. 1994. In vivo characterization of vasodilating muscarinic-receptor subtypes in humans. *Circ. Res.* 79: 912-919.
- CÁRCAMO, N. 2000. Efectos 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.

- CAREY, R. M., W. ZHI-QIN, H. SIRAGY. 2000. Role of the angiotensin type 2 receptor in the regulation of blood pressure and renal function. *Hypertension*. 35: 155-160.
- 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.
- COOKE, J. P., E. D. FROHLICH. 1997. Hipertensión y Enfermedad Vascular. 2ª ed., Ediciones Científicas y Técnicas, S. A. Barcelona. España.
- COCCUCI, A. A. 1989. El mecanismo floral de *Schizanthus*. *Kurtziana*. 20: 113-132.
- CRAIG, C. R., R. E. STITZEL. 1994. Modern Pharmacology. 4<sup>th</sup> ed., Litle, Brown and Company. London. England.
- CUNNINGHAM, J. G. 1999. Fisiología Veterinaria. 2ª ed., McGraw-Hill Interamericana. Ciudad de México. México.
- DE LA FUENTE, G., M. REINA, O. MUÑOZ, A. SAN MARTÍN, P. GIRAULT. 1988. Tropane alkaloids from *Schizanthus pinnatus*. *Heterocycles*. 27: 1887-1897.
- DIPETTE, D. J. 1999. Experimental models of hipertensión. En: IZZO, J., H. Black. Hipertensión Primer: the essential of high blood presure. 2<sup>nd</sup> ed., from the Council on High Blood Pressure Research, American Heart Association. United States of America.
- EGLIN, R. M., H. S. SHARATH, N. WATSON. 1996. Muscarinic receptor subtypes and smooth muscle function. *Pharmacol. Rev.* 48: 531-556.
- FARRIS, E. J., J. Q. GRIFFITH. 1996. The Rat in Laboratory Investigation. 2<sup>nd</sup> ed., Hafner Publishing Company. New York. United States of America.
- FIGUEROA, C. 1993. Efecto del extracto de *Panax ginseng*, *Ginkgo biloba* y *Schizandra chinensis* solos y asociados sobre la presión arterial, frecuencias cardíaca y respiratoria en ratas. Tesis, M. V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- FLÓREZ, J. 2003. Farmacología Humana. 4ª ed., Masson. Barcelona. España.
- FORTE, P., N. B. NIGEL. 2001. Does an impaired flow mediated vasodilatation predict hypertension in offspring hypertensive parents?. *Heart*. 85: 131-135.
- FROHLICH, E. D. 1997. Clasificaciones clínicas de las enfermedades hipertensivas. En: FUSTER, V., R. ROSS, E. J. TOPOL. Ateroesclerosis y Enfermedad Arterial Coronaria. 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 seneciolyxitropane alkaloids from *Schizanthus hookerii*. *Phytochemistry*. 22: 1838-1839.
- GANONG, W. 1998. Fisiología Médica. 16<sup>a</sup> ed., El Manual Moderno. Ciudad de México. México.
- GOLDBLATT, H., J. LYNCH, R. F. HANZAL, W. W. SUMERVILLE. 1934. Studies on experimental hypertension. The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. *J. Exp. Med.* 59: 347-379.
- GÓMEZ, J. E. 1988. Efecto de la administración de propanolol y de un extracto acuoso de *Centaureum cachenlahuen* (Mol.) *Robinson* en ratas hipertensas. Tesis, M. V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- GOTTSCHALK, C. F. 2003. Evaluación de alcaloides tipo tropano presentes en *Schizanthus grahamii* sobre la actividad contráctil de aorta de rata. Memoria de Título, M. V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- GRAU, J., A. GRONBACH. 1984. Untersuchungen Zur Variabilität in der Gattung *Schizanthus* (Solanaceae). *Mitt. Bot. Manchen.* 20: 111-203.
- GRAU, J. 1992. Particularidades de la flora chilena. En: Flora silvestre de Chile. Grau, J., Zizka, G. Palmengarten. Frankfurt. Alemania.
- GRINGAUZ, A., 1997. Introduction to Medicinal Chemistry. Wiley-VCH Inc. New York. United States of America.
- GUYTON, A.C., J. E. HALL. 2001. Tratado de Fisiología Médica. 10<sup>a</sup> ed., McGraw-Hill. Interamericana. Barcelona, España.
- HARDMAN, J., L. LIMBIRD, A. GOODMAN. 2001. The Pharmacological Basis of Therapeutics. 10<sup>th</sup> ed., McGraw-Hill. New York. United States of America.
- HARTMANN, R., A. SAN MARTÍN, O. MUÑOZ, E. BREITMAIER. 1996. Grahamine an unusual tropane alkaloid from *Schizanthus grahamii*. *Angewandte Chemie.* 29: 385-386.

- HERRERA, M. 2003. Efecto de alcaloides tipo tropano presentes en *Schizanthus grahamii* sobre la presión arterial, en ratas normotensas e hipertensas. Memoria de Título, M. V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- HULME, E. C., N. J. BIRDSALL, N. J. BUCKLEY. 1990. Muscarinic receptor subtypes. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 30: 573-633.
- HUNZIKER, T. A. 1979. South American Solanaceae. Academic Press Inc. London. England.
- KAPLAN, N. M. 1999. Hipertensión Clínica. 3ª ed., Waverly Hispánica S.A. Barcelona. España.
- KATZUNG, B. G. 2002. Farmacología Básica y Clínica. 8ª ed., El Manual Moderno. Ciudad de México. México.
- LEENEN, F. J., W. DE JONG. 1971. A solid silver clip for induction of predictable levels of renal hypertension in the rats. *J. Appl. Physiol.* 31: 142-144.
- LOUNASMAA, M., T. TAMMINEN. 1993. The tropane alkaloids. In: The alkaloids Chemistry and Pharmacology. Cordell, G.A. Academic Press Inc. London. England.
- 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.
- MANUAL MERCK. 2001. Merck Sharp & Dohme de España SA. Madrid. España.
- McPHEE, S. J., V. R. LINGAPPA., W. F. GANONG., J. D. LANGE. 2000. Fisiopatología Médica. 2ª ed., El Manual Moderno. Ciudad de México. México.
- MIERES. M. 1998. Valoración del efecto hipotensor de los extractos de hojas de *Tristerix (Phrygilanthus) tetrandus*, sobre ratas normotensas. Tesis, M. V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, 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. Departamento técnico de investigación. Universidad de Chile.
- MUÑOZ, O., C. SCHENEIDER, E. BREITMAIER. 1994. A new pyrrolidine alkaloid from *Schizanthus integrifolius*. *Phil. Liebigs Ann. Chem.* 521-522.
- MUÑOZ, O., M. PIOVANO, J. GAMBARINO, V. HELLWING, E. BREIRMAIER. 1996. Tropane alkaloids from *Schizanthus litoralis*. *Phytochemistry.* 43: 709-713.

- NEELAM, J., G. LAMBRECHT, E. MUTSCHLER, R. TACKE, K. U. MALIK. 1991. Pharmacological characterization of the vascular muscarinic receptors mediating relaxation and contraction in rabbit aorta. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 258: 842-850.
- OLHABERRY, J. 1992. Efecto del extracto de *Phrygilanthus sp* sobre la presión arterial de ratas: vías de acción. Tesis, M. V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- PALMA, G. 2000. Evaluación del efecto hipotensor de extractos fraccionados y de un extracto sin potasio de *Muehlenbeckia hastulata*, Quilo o Voqui negro, administrados por vía intraperitoneal, a ratas normotensas anestesiadas. Tesis, M. V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- 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.
- PANZA, J. A., P. R. CASINO, D. M. BADAR, A. A. QUYYUMI. 1993. Effect of increased availability of endothelium-derived nitric oxide precursor on endothelium-dependent vascular relaxation in normal subjects and in patients with essential hypertension. *Circulation.* 87: 1475-1481.
- PARSONS, S. M., C. PRIOR, J. G. MARSHALL. 1993. Acetylcholine transport, storage, and rease. *Int. Rev. Neurobiol.* 35: 279-390.
- PEDRAZA-CHAVERRI, J., E. TAPIA, O. MEDINA-CAMPOS, M. DE LOS ÁNGELES GRANDOS, M. FRANCO. 1998. Garlic prevents hipertension induced by chonic inhibition of nitric oxide synthesis. *Life Sci.* 62: 71-77.
- PERTICONNE, F., R. CERAVOLO, A. PUJIA, G. VENTURA, S. IACOPINO, A. SCOZZAFAVA, A. FERRARO, M. CHELLO, P. MASTROROBERTO, P. VERDECCHIA, G. SCHILLACI. 2001. Prognostic significance of endothelial dysfunction in hypertensive patients. *Circulation.* 104: 191-200.
- PLANAS, J. M., A. COCA. 1998. Fisiopatología de la presión arterial. En: A. ESTELLER; M. CORDERO. Fundamentos de Fisiopatología. McGraw-Hill Interamericana. Madrid. España.
- POLLOCK, D., M. KAVOLI, H. FALLAH. 2002. Vasorelaxant effects of atropine: role of nitric oxide-endothelium derived relaxing factor. *Indian J. Pharmacol.* 34: 244-250.
- 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.

- POREDOS, P. 2002. Endothelial dysfunction in the pathogenesis of atherosclerosis. *Int. Angiol.* 21: 109-111.
- RAMIRO, M., J. HALABE, J. LÓPEZ. 2002. El Internista. 2<sup>a</sup> ed., McGraw-Hill Interamericana. Ciudad de México. México.
- RAMZI, S. C., V. KUMAR, T. COLLINS. 2001. Patología Estructural y Funcional. 6<sup>a</sup> ed., McGraw-Hill Interamericana. Ciudad de México. México.
- ROJAS, F. 2000. Enfermedades del Corazón y los Vasos. 3<sup>a</sup> ed., Mediterráneo. Santiago. Chile.
- ROSNER, B. 2000. Fundamentals of Biostatistics. 5<sup>th</sup> ed., Duxbury. New York. United States of America.
- SÁNCHEZ, E. 1988. Efecto de los extractos de *Crataegus oxyacantha*, *Olea europea* y *Phrygilanthus sp* en la presión arterial en ratas normales o con hipertensión inducida. Tesis, M. V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- 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.
- SCHEMELLER, T., F. SPORER, M. SAUERWEIN, M. WINK. 1995. Binding of tropane alkaloids to nicotinic and muscarinic acetylcholine receptors. *Pharmazie*. 50: 493-495.
- SEIGLER, D. S. 1981. Secondary metabolites and plant systematics. In: The biochemistry of Plants. Academic Press Inc. London. England.
- SPIEGEL, M. 1991. Estadística. 2<sup>a</sup> ed., McGraw-Hill Interamericana. Madrid. España.
- TADDEI, S., A. VIRDIS, P. MATTEI, L. GHIADONI, I. SUDANO, A. SALVETTI. 1996. Defective L-arginine-nitric oxide pathway in offspring of essential hypertensive patients. *Circulation*. 94: 1298-1303.
- TADDEI, S., A. VIRDIS, P. MATTEI, L. GHIADONI, C. B. FASOLO, I. SUDANO, A. SALVETTI. 1997. Hypertension causes premature aging of endothelial function in humans. *Hypertension*. 29:736-743.
- TAYLOR, K., P. BURNS, P. WELLS. 1999. Doppler: Aplicaciones Clínicas de Ecografía Doppler. 2<sup>a</sup> ed., Marbrán libros. Madrid. España.

- 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. 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. 2000. Fisiología Humana. 2<sup>a</sup> ed., McGraw-Hill Interamericana. Madrid. España.
- TSUKAMOTO, T., T. MATSUI. 1994. Vascular muscle in coronary Herat disease. *Nippon Rinsho*. 52: 100-104.
- VIAL, S., H. CISTERNA, H. ROSENBERG, G. VALDES. 1990: Temas de Nefrología. Ediciones Universidad Católica de Chile. Santiago. Chile.
- VIO, C., J. ROBLERO, H. CROXATO. 1980. Kallikrein-kinin and renin-angiotensin system in renovascular hypertension in rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 163: 447-451.
- YUTRONIC, V. 2001. Evaluación del efecto antihipertensivo de extractos sin K<sup>+</sup>, 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. Biostatistical Analysis. 4<sup>th</sup> ed., Plentice-Hall International Inc. New Jersey. United States of America.

## 8. ANEXOS.

### ANEXO N° 1:



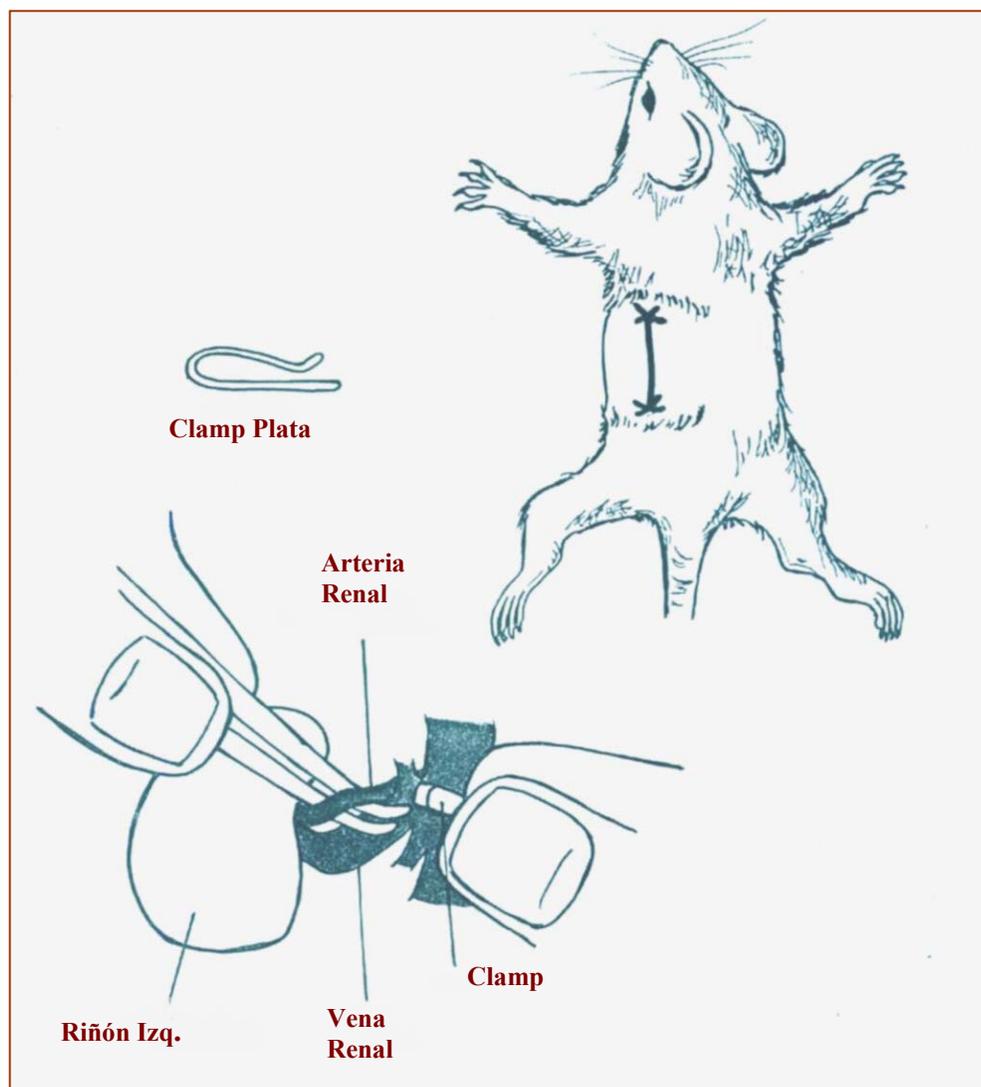
**Figura N° 4:** Rata de la cepa Sprague Dawley.

**ANEXO N° 2:**

**Tabla N° 1:** Peso promedio de ratas normotensas expresado en gramos (g) y su error estándar (E.E.) previo a la cirugía (PC) y al inicio del tratamiento.

	<b>Peso (gramos)</b>	<b>± E. E.</b>	<b>PAS (mm Hg)</b>	<b>± E. E.</b>
<b>Pre-Cirugía</b>	110,5	2,20	114,9	1,81
<b>Pre- Tratamiento</b>	306,6	5,52	130,8	3,84

## ANEXO N° 3:



**Figura N° 5:** Esquema de implantación modelo Goldblatt dos riñones una pinza.

**ANEXO N° 4:**

**Figura N° 6:** Equipo de ultrasonido Doppler, esfigmomanómetro, manguito inflable, gel para ultrasonido, cubículo de inmovilización y otros materiales necesarios para efectuar la medición de la presión arterial sistólica.

**ANEXO N° 5:**

**Tabla N° 2:** Presión arterial sistólica promedio (PASP) expresada en mm Hg y su error estándar (E.E.) desde el inicio de la inducción de la hipertensión arterial con la técnica Golblatt dos riñones una pinza.

Semanas	PASP	± E. E.
PC	114,9	1,82
1	119,8	1,53
2	138,0	1,26
3	153,6	2,04
4	170,0	2,04
5	176,7	3,72
6	177,6	4,28
7	178,0	4,29
8	178,6	4,37

**ANEXO N° 6:**

**Tabla N° 3:** Presión arterial sistólica promedio (PASP) expresada en mm Hg y su error estándar (E.E.) en ratas normotensas (serie 1) en el período de valoración del efecto del extracto (PVEE) de *Schizanthus tricolor* 15 minutos previo a su administración.

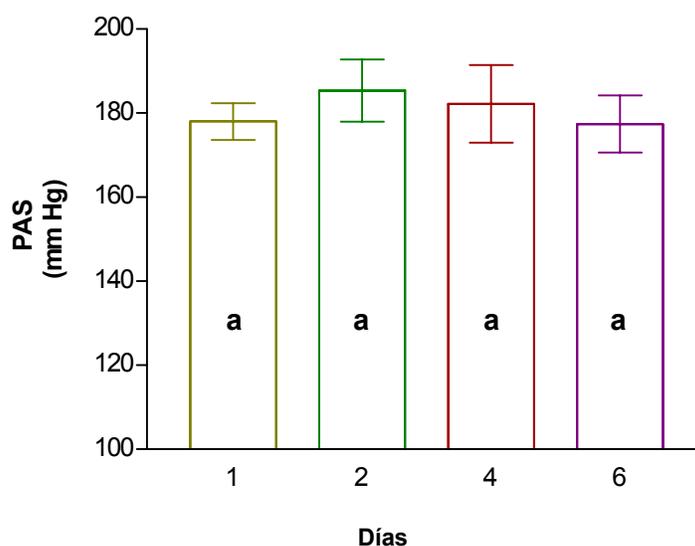
Días	Pre-extracto	± E. E.
1	130,8	3,84
2	139,2	2,78
4	149,4	4,32
6	158,4	3,15

## ANEXO N° 7:

**Tabla N° 4:** Presión arterial sistólica promedio (PASP) expresada en mm Hg y su error estándar (E.E.) en ratas hipertensas en el período de valoración del efecto del extracto (PVEE) de *Schizanthus tricolor* 15 minutos previo a su administración.

Días	Pre-extracto	± E. E.
1	178,0	4,37
2	185,4	7,42
4	182,2	9,27
6	177,4	6,77

## ANEXO N° 8:



**Gráfico N° 9:** Promedio de PAS ( $\pm$  E.E.) en ratas hipertensas renovasculares (serie 2) en el período de valoración del extracto (PVEE) de *Schizanthus tricolor* 15 minutos previo a su administración. Letras iguales indican que no existen diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

**ANEXO N° 9:**

**Tabla N° 5:** Presión arterial sistólica promedio (PASP) expresada en mm Hg y su error estándar (E.E.) en ratas normotensas en el período de valoración del efecto del extracto (PVVE) de *Schizanthus tricolor* 15 minutos posterior a su administración.

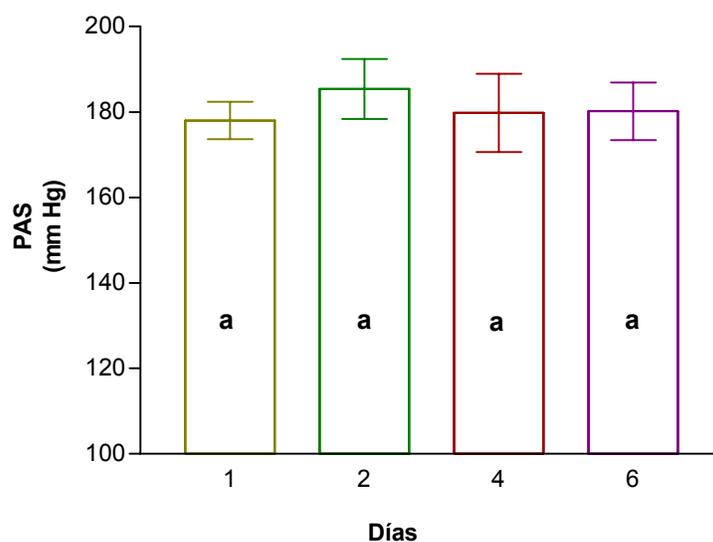
Días	Post-extracto	± E. E.
1	130,8	3,84
2	146,8	1,93
4	155,0	2,60
6	164,4	3,11

## ANEXO N° 10:

**Tabla N° 6:** Presión arterial sistólica promedio (PASP) expresada en mm Hg y su error estándar (E.E.) en ratas hipertensas en el período de valoración del efecto del extracto (PVEE) de *Schizanthus tricolor* 15 minutos posterior a su administración.

Días	Post-extracto	± E. E.
1	178,0	4,37
2	185,4	7,00
4	179,8	9,16
6	180,2	6,75

## ANEXO N° 11:



**Gráfico N° 10:** Promedio de PAS ( $\pm$  E.E.) en ratas hipertensas renovasculares (serie 2) en el período de valoración del extracto (PVEE) de *Schizanthus tricolor* 15 minutos posterior a su administración. Letras iguales indican que no existen diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

**ANEXO N° 12:**

**Tabla N° 7:** Presión arterial sistólica promedio (PASP) expresada en mm Hg y su error estándar (E.E.) en ratas normotensas en el período de valoración del efecto del extracto (PVEE) de *Schizanthus tricolor* 15 minutos previo y 15 minutos posterior a su administración.

Días	Pre-extracto	± E. E.	Post-extracto	± E. E.
2	139,2	2,78	146,8	1,93
4	149,4	4,32	155,0	2,60
6	158,4	3,15	164,4	3,11

**ANEXO N° 13:**

**Tabla N° 8:** Presión arterial sistólica promedio (PASP) expresada en mm Hg y su error estándar (E.E.) en ratas hipertensas renovasculares en el período de valoración del efecto del extracto (PVEE) de *Schizanthus tricolor* 15 minutos previo y 15 minutos posterior a su administración.

Días	Pre-extracto	± E. E.	Post-extracto	± E. E.
2	185,4	7,42	185,4	7,00
4	182,2	9,27	179,8	9,16
6	177,4	6,77	180,2	6,75

**ANEXO N° 14:**

**Tabla N° 9:** Presión arterial sistólica promedio (PASP) expresada en mm Hg y su error estándar (E.E.) en ratas normotensas el día 6, último día del período de valoración del efecto del extracto (PVEE) de *Schizanthus tricolor* 15 minutos previo a su administración y durante el período post-tratamiento (PPT) días.

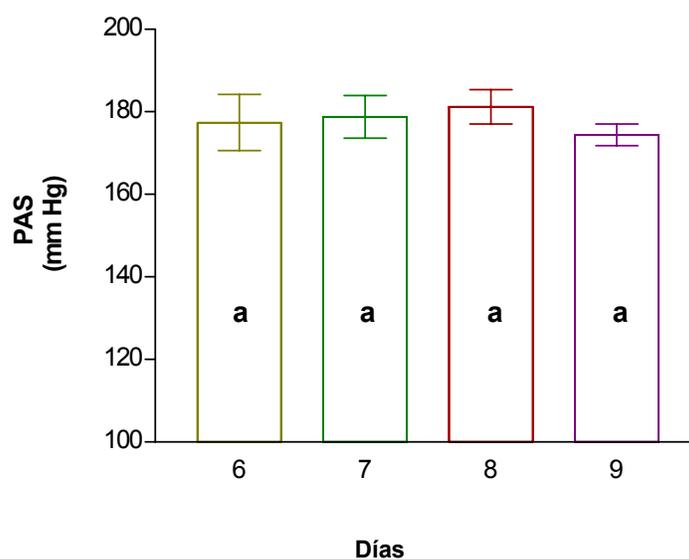
<b>Días</b>	<b>Pre-extracto</b>	<b>± E. E.</b>
6	158,4	3,15
7	167,0	2,11
8	175,6	2,21
9	171,1	1,27

## ANEXO N° 15:

**Tabla N° 10:** Presión arterial sistólica promedio (PASP) expresada en mm Hg y su error estándar (E.E.) en ratas hipertensas el día 6, último día del período de valoración del efecto del extracto (PVEE) de *Schizanthus tricolor* 15 minutos previo a su administración y durante el período post-tratamiento (PPT).

Días	Pre-extracto	± E. E.
6	177,4	6,77
7	178,8	5,16
8	181,2	4,19
9	174,4	2,63

## ANEXO N° 16:



**Gráfico N° 11:** Promedio de PAS ( $\pm$  E.E.) en ratas hipertensas renovasculares (serie 2), 15 minutos previo a la administración de extracto de *Schizanthus tricolor* (día 6) y durante el período post-tratamiento. Letras iguales indican que no existen diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

**ANEXO N° 17:**

**Tabla N° 11:** Presión arterial sistólica promedio (PASP) expresada en mm Hg y su error estándar (E.E.) en ratas normotensas el día 6, último día del período de valoración del efecto del extracto (PVEE) de *Schizanthus tricolor* 15 minutos posterior a su administración y durante el período post-tratamiento (PPT) días 7,8 y 9.

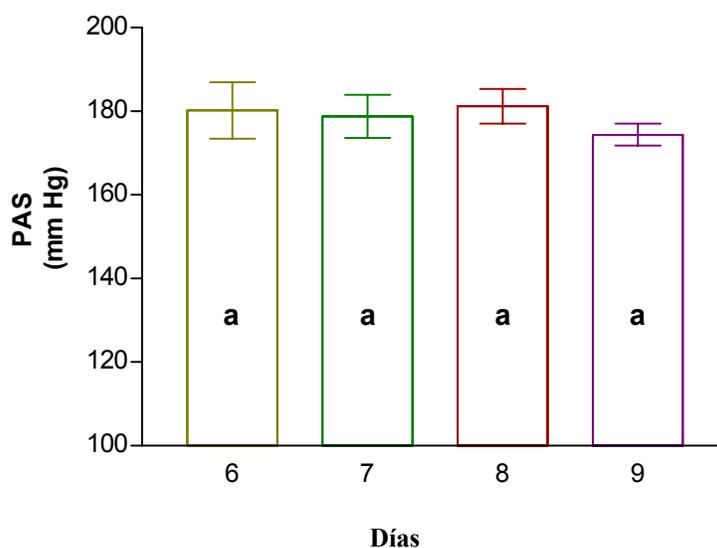
Días	Post-extracto	± E. E.
6	164,4	3,11
7	167,0	2,11
8	175,6	2,21
9	171,1	1,27

## ANEXO N° 18:

**Tabla N° 12:** Presión arterial sistólica promedio (PASP) expresada en mm Hg y su error estándar (E.E.) en ratas hipertensas el día 6, último día del período de valoración del efecto del extracto (PVEE) de *Schizanthus tricolor* 15 minutos posterior a su administración y durante el período post-tratamiento (PPT) días 7, 8 y 9.

Días	Post-extracto	± E. E.
6	180,2	6,75
7	167,0	5,16
8	175,6	4,19
9	171,1	2,63

## ANEXO N° 19:



**Gráfico N° 12:** Promedio de PAS ( $\pm$  E.E.) en ratas hipertensas renovasculares (serie 2), 15 minutos posterior a la administración de extracto de *Schizanthus tricolor* (día 6) y durante el período post-tratamiento. Letras iguales indican que no existen diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

## 9. AGRADECIMIENTOS.

Quiero dar las gracias a todos quienes me ayudaron a concluir con la realización de esta memoria.

- A mis padres y hermanas, por su amor y apoyo incondicional.
- A mi novio Francisco, por su amor y comprensión.
- A mi amiga Marisol, por su colaboración y apoyo durante todo el desarrollo de este trabajo.
- A mi profesor patrocinante Dr. Marcos Moreira, por su excelente disposición, orientación y apoyo.
- A mi profesor copatrocinante Dr. Frédérick Ahumada, por su orientación y apoyo.
- A los profesores del Instituto de Farmacología, en especial a la Dra. Viviana Bustos y Dr. Luis Améstica por su colaboración durante toda la realización de este trabajo.
- A la Dra. Juana Nuñez, por su colaboración y apoyo.
- A la Sra. Nury Sánchez y Srta. Juanita Vargas, por su colaboración.