



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**Estudio químico y evaluación de la
actividad antihipertensiva y
antiagregante plaquetaria del extracto
de peridermis de *Solanum tuberosum*
(SOLANACEAE)**

Juan Carlos León Peña

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Departamento de Química
Bogotá D.C., Colombia

2017

Estudio químico y evaluación de la actividad antihipertensiva y antiagregante plaquetaria del extracto de peridermis de *Solanum tuberosum* (SOLANACEAE)

Juan Carlos León Peña

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Ciencias - Química

Director:

Dr.Sc., M.Sc., Químico. Luis Enrique Cuca Suárez

Asesor farmacológico:

Dr.Sc., M.Sc., Médico. Mario Francisco Guerrero Pabón

Línea de Investigación:

Productos Naturales Vegetales

Grupo de Investigación:

Estudio químico y de actividad biológica de Rutaceae y Myristicaceae Colombianas

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Departamento de Química
Bogotá D.C., Colombia

2017

*A mi familia, y a todas las personas que aportaron y contribuyeron
a mi crecimiento personal y formación profesional.*

Agradecimientos

Agradezco a mi director Luis Enrique Cuca, por brindarme la oportunidad de trabajar con su grupo de investigación, compartir su conocimiento, su tiempo y orientarme en el transcurso de esta investigación.

A los miembros del grupo de investigación “*Estudio químico y de actividad biológica de Rutaceae y Myristicaceae Colombianas*” del Departamento de Química, por brindarme la oportunidad de trabajar con ellos y compartir su espacio, recursos y apoyo para llevar a cabo este proyecto. De allí, a los docentes Oscar Patiño, Mónica Ávila y Wilman Delgado; a mis compañeros Erika Plazas, Jorge Parra, Diego Muñoz, William Patiño, Ilya Olaya, Tatiana Albarracín, Laura Rodríguez y demás integrantes, por su compañía, orientación, colaboración y motivación.

Al grupo de investigación “*Farmacología Molecular FARMOL*” del Departamento de Farmacia, por la capacitación, colaboración y recursos para el desarrollo de los ensayos de actividad biológica. Al director del grupo Mario Francisco Guerrero, por su confianza, orientación y asesoría farmacológica; A Diana Buitrago, Jenaro Espitia y David Borda, por su disposición, conocimiento y capacitación brindada.

A las docentes Elizabeth Gil y Julieth Prieto de la Universidad Javeriana, por la asesoría y colaboración con algunos experimentos de este proyecto de investigación.

A la Fundación Hematológica Colombia, estudiantes, amigos y compañeros que me donaron sus muestras de sangre para los ensayos de actividad antiagregante plaquetaria.

A Colciencias y la Universidad Nacional de Colombia, por la financiación de este proyecto a través del programa “Jóvenes Investigadores”.

A mis amigos Lisbeth Tovar y Luis Contreras, por la compañía, motivación y risas que compartimos durante esta etapa de nuestras vidas.

Resumen

El estudio fitoquímico llevado a cabo en la peridermis del tubérculo de la especie *Solanum tuberosum* variedad sabanera (Solanaceae), permitió aislar un compuesto con actividad antiagregante plaquetaria y otro con potencial efecto antihipertensivo, ambos obtenidos a partir del extracto etanólico empleando diferentes técnicas cromatográficas.

A partir del extracto etanólico, se obtuvieron 10 fracciones de polaridad creciente que fueron sometidas a ensayos de agregación plaquetaria por medio de la técnica turbidimétrica de Born, empleando plaquetas humanas inducidas con los agonistas (Colágeno, ácido Araquidónico, Epinefrina y ADP). Como resultado, se obtuvo a través de un análisis estadístico que las fracciones EPS-2 y EPS-7 presentaban diferencias frente al control (DMSO), indicando la posible presencia de metabolitos con actividad antiagregante plaquetaria.

Posteriormente, las fracciones EPS-2 y EPS-7 fueron fraccionadas utilizando diferentes técnicas cromatográficas para purificar los compuestos SP-1 y SP-2 respectivamente. Estos compuestos fueron sometidos a los ensayos de agregación plaquetaria, obteniendo que el compuesto SP-2 identificado por RMN como *Cafeato de etilo*, presenta actividad antiagregante plaquetaria frente a los cuatro agonistas empleados, y se comporta de manera similar al patrón ácido acetilsalicílico (ASA). En una segunda fase, se construyó una curva de concentración del compuesto SP-2 – porcentaje de inhibición de la agregación plaquetaria, para obtener los valores de CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$) frente a cada agonista: Epinefrina (59,47), APD (61,05), Colágeno (63,23) y Ácido araquidónico (62,75).

Adicionalmente, y considerando reportes etnobotánicos e investigaciones recientes llevadas a cabo en la Universidad Nacional de Colombia, se evaluó el efecto hipotensor en rata desmedulada de las fracciones apolares EPS-1, EPS-2 y EPS-3 obtenidas del extracto etanólico. Los resultados de esta investigación, permiten evidenciar que la fracción de tipo apolar EPS-2, tiene efecto antihipertensivo en rata desmedulada estimulada con noradrenalina. Sin embargo, también se pudo verificar que esta actividad no es atribuida a los ésteres de ácido graso presentes en este tipo de fracciones como sugieren estudios anteriores. En consecuencia, el efecto antihipertensivo de esta fracción, puede ser ocasionado por otro tipo de compuestos como el *Ferulato de tetradecilo*, aislado e identificado por RMN de la fracción EPS-2.

En conclusión, esta investigación resalta el potencial farmacológico del extracto de peridermis de *S. tuberosum* variedad sabanera, como fuente de metabolitos activos para el tratamiento de afecciones cardiovasculares.

Palabras clave: Agregación plaquetaria, Actividad antihipertensiva, Peridermis, *Solanum tuberosum*, metabolitos secundarios.

Abstract

The phytochemical study carried out on the tuber periderm of the species *Solanum tuberosum* variety *sabanera* (Solanaceae) allowed the chromatographic isolation of a compound with platelet antiaggregant activity and another one with potential antihypertensive effect, both of them obtained from the ethanolic extract.

From the ethanolic extract, 10 fractions of increasing polarity were obtained. Their biological evaluation was performed with Born's turbidimetric method and different agonists-induced platelet aggregation (Collagen, Arachidonic acid, Epinephrine and ADP). After statistical analysis, it EPS-2 and EPS-7 fractions showed significant differences in comparison with the control (DMSO), which indicates the possible presence of metabolites with platelet antiaggregant activity.

Subsequently, the fractionation of EPS-2 and EPS-7 led to the purification of the compounds SP-1 and SP-2, respectively. These compounds were also subjected to the platelet aggregation test. The SP-2, identified by NMR as *Ethyl Cafeate* inhibited platelet aggregation induced by the four used agonists, and behaved similarly to the standard acetylsalicylic acid (ASA). In a second phase of the project, a dose-response curve for SP-2 was generated. The estimated IC_{50} values ($\mu\text{g/mL}$) against each agonist-induced platelet aggregation were Epinephrine (59,47), APD (61,05), Collagen (63,23) and arachidonic acid (62,75).

On the other hand, considering ethnobotanical reports and recent research carried out at the National University of Colombia, the hypotensive effect of the apolar fractions EPS-1, EPS-2 and EPS-3 obtained from the ethanolic extract was evaluated in pithed rat. The

results showed that the apolar EPS-2 fraction has antihypertensive effect in a pithed rat stimulated with noradrenaline. In addition, this activity was not attributed to the fatty acid esters present in this type of fractions, as previous studies suggest. Conversely, the antihypertensive effect of this fraction might be caused by other types of compounds such as *tetradecyl ferulate*, which was isolated from the EPS-2 fraction and identified through NMR.

In conclusion, this research project highlights the pharmacological potential of the peridermium extract of *S. tuberosum* variety *sabanera* as a source of active metabolites for the treatment of cardiovascular diseases.

Keywords: Platelet aggregation, Antihypertensive activity, Periderm, Secondary metabolites, *Solanum tuberosum*.

Contenido

	Pág.
Lista de figuras.....	XIII
Lista de tablas	XV
Lista de Símbolos y abreviaturas.....	XVI
Introducción	1
1. Marco teórico.....	3
1.1 Hipertensión arterial	3
1.2 Fenómeno de agregación plaquetaria	6
1.3 Productos naturales con actividad antihipertensiva o antiagregante plaquetaria	8
1.4 Familia Solanaceae.....	10
1.5 Género <i>Solanum</i>	13
1.6 Especie <i>Solanum tuberosum</i>	17
1.6.1 Variedad sabanera de la especie <i>S. tuberosum</i>	21
1.6.2 Estudios fitoquímicos de la especie <i>S. tuberosum</i>	22
2. Metodología.....	25
2.1 Procedimientos generales	25
2.2 Recolección del material vegetal	27
2.3 Obtención del extracto etanólico	27
2.4 Estudio fitoquímico del extracto etanólico de la peridermis de <i>S. tuberosum</i>	27
2.5 Actividad antihipertensiva.....	30
2.6 Actividad antiagregante plaquetaria	31
3. Resultados y discusión	33
3.1 Ensayos de actividad antihipertensiva	34
3.2 Estudio fitoquímico de la fracción EPS-2.....	39
3.2.1 Elucidación estructural del compuesto SP-1	39
3.3 Ensayos de actividad antiagregante plaquetaria	47
3.4 Estudio fitoquímico de la fracción EPS-7	52
3.4.1 Elucidación estructural del compuesto SP-2.....	52
4. Conclusiones y recomendaciones.....	59
4.1 Conclusiones.....	59
4.2 Proyecciones y recomendaciones	60

XII Estudio químico y evaluación de la actividad antihipertensiva y antiagregante plaquetaria del extracto de peridermis de *Solanum tuberosum* (SOLANACEAE)

A. Anexo: Consentimiento informado.....	61
B. Anexo: Cromatogramas de la caracterización preliminar de las fracciones apolares.....	63
Bibliografía	65

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1-1: Especies representativas de la familia Solanaceae.	10
Figura 1-2: Características morfológicas de la familia Solanaceae.	11
Figura 1-3: Distribución geográfica a nivel mundial de la familia Solanaceae.	12
Figura 1-4: Morfología del género Solanum.	14
Figura 1-5: Papa, especie representativa de la familia Solanaceae.	17
Figura 1-6: Distribución geográfica a nivel mundial de la especie <i>S. tuberosum</i>	18
Figura 1-7: Algunas características morfológicas de la especie <i>S. tuberosum</i>	19
Figura 1-8: Características estructurales del tubérculo de la especie <i>S. tuberosum</i>	19
Figura 1-9: Peridermis del tubérculo de la especie <i>S. tuberosum</i>	20
Figura 1-10: Tubérculos de <i>S. tuberosum</i> variedad Sabanera.	21
Figura 2-1: Diagrama general del estudio fitoquímico del extracto etanólico de la peridermis de <i>S. tuberosum</i> variedad sabanera.	29
Figura 3-1: Efecto hipotensor sobre la presión arterial en rata desmedulada de la fracción EPS-1 a diferentes concentraciones.	35
Figura 3-2: Efecto hipotensor sobre la presión arterial en rata desmedulada de la fracción EPS-3 a diferentes concentraciones.	36
Figura 3-3: Efecto hipotensor sobre la presión arterial en rata desmedulada de la fracción EPS-2 a diferentes concentraciones.	36
Figura 3-4: Efecto hipotensor sobre la presión arterial en rata desmedulada de la fracción EPS-2 con administración repetida de noradrenalina.	38
Figura 3-5: Espectro de RMN ¹ H del compuesto SP-1 (CDCl ₃ , 400 MHz)	40
Figura 3-6: Espectro de RMN ¹³ C y DEPT 135 del compuesto SP-1 (CDCl ₃ , 100 MHz).	41
Figura 3-7: Espectro COSY del compuesto SP-1 (CDCl ₃ , 400 MHz).	42
Figura 3-8: Espectro HMQC del compuesto SP-1 (CDCl ₃ , 400 MHz).	43
Figura 3-9: Espectro HMBC del compuesto SP-1 (CDCl ₃ , 400 MHz).	44
Figura 3-10: Espectro de masas por ESI para el compuesto SP-1.	45
Figura 3-11: Estructura del compuesto SP-1	45
Figura 3-12: Efecto antiagregante plaquetario ejercido por el extracto etanólico y las fracciones de <i>S. tuberosum</i> variedad sabanera.	48
Figura 3-13: Efecto antiagregante plaquetario ejercido por los compuestos aislados del extracto etanólico de <i>S. tuberosum</i> variedad sabanera.	49
Figura 3-14: Curva de concentración – porcentaje de inhibición de la agregación plaquetaria en plaquetas humanas tratadas con el compuesto SP-2, frente a los cuatro agonistas de agregación plaquetaria.	50

Figura 3-15: Espectro de RMN ^1H del compuesto SP-2 (CD_3OD , 400 MHz).	53
Figura 3-16: Espectro de RMN ^{13}C y DEPT 135 del compuesto SP-2 (CD_3OD , 100 MHz).	54
Figura 3-17: Espectro COSY del compuesto SP-2 (CD_3OD , 400 MHz).....	55
Figura 3-18: Espectro HMQC del compuesto SP-2 (CD_3OD , 400 MHz).	56
Figura 3-19: Espectro HMBC del compuesto SP-2 (CD_3OD , 400 MHz)	57
Figura 3-20: Estructura del compuesto SP-2.....	58

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1-1: Clasificación de la hipertensión arterial.	3
Tabla 1-2: Reportes de especies utilizadas con fines cardiovasculares.	9
Tabla 1-3: Actividad biológica reportada en especies de la familia Solanaceae.	12
Tabla 1-4: Actividad biológica confirmada de algunas especies del género <i>Solanum</i>	15
Tabla 1-5: Clasificación taxonómica de la especie <i>S. tuberosum</i>	17
Tabla 3-1: Caracterización preliminar de las fracciones apolares por GC-EM.	33
Tabla 3-2: Efecto hipotensor sobre la presión arterial de las fracciones EPS-1, EPS-2 y EPS-3 en rata desmedulada.	35
Tabla 3-3: Efecto hipotensor sobre la presión arterial en rata desmedulada de la fracción EPS-2 con administración repetida de noradrenalina.	37
Tabla 3-4: Comparación de los datos de RMN ¹ H y RMN ¹³ C, del compuesto SP-1.	46
Tabla 3-5: Porcentajes de agregación en plaquetas humanas tratadas con el extracto y las fracciones de <i>S. tuberosum</i> variedad sabanera.	47
Tabla 3-6: Porcentajes de agregación en plaquetas humanas tratadas con los compuestos aislados de <i>S. tuberosum</i> variedad sabanera.	49
Tabla 3-7: Porcentajes de agregación plaquetaria en plaquetas humanas tratadas con el compuesto SP-2 frente a los agonistas epinefrina, ácido araquidónico, ADP y colágeno.	50
Tabla 3-8: Valores de CI ₅₀ con su respectivo intervalo de confianza (95 %) del compuesto SP-2 sobre la agregación plaquetaria inducida por los agonistas epinefrina, ADP, colágeno y ácido araquidónico.	51
Tabla 3-9: Comparación de los datos de RMN ¹ H y RMN ¹³ C, del compuesto SP-2.	58

Lista de Símbolos y abreviaturas

AcETo	Acetato de etilo
ADP	Adenosín difosfato
ASA	Ácido acetilsalicílico
brs	Singlete ancho
c	Cuarteto
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
CD ₃ OD	Metanol deuterado
CG-EM	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas
CHCl ₃	Cloroformo
CH ₃ COOH	Ácido acético
CI ₅₀	Concentración inhibitoria 50
cm	Centímetro
COSY	Homonuclear Correlation Spectroscopy
°C	Grados centígrados
d	Doblete
DCM	Diclorometano
dd	Doble de doble
DEPT 135	Distorsionless enhancement by polarization transfer
DMSO	Dimetil sulfóxido
DMK	Dimetilcetona
EPS	Extracto etanólico de la peridermis de <i>S. tuberosum</i> , variedad sabanera
EPS-	Fraciones obtenidas del extracto etanólico de <i>S. tuberosum</i>
EtOH	Etanol
FAO	Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura
g	Gramo
Hex	Hexano
HF ₂₅₄	Indicador de Fluorescencia en longitud de onda de 254 nm
HMBC	¹ H-Detected Multiple Bond Heteronuclear Multiple Quantum
HMQC	¹ H-Detected Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
H.R.	Humedad relativa
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
HTA	Hipertensión arterial
Hz	Hertz
I.P.	Intraperitoneal
I.V.	Intravenoso
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
Kg	Kilogramo
m	Metro
mg	Miligramo
MeOH	Metanol
MHz	Megahertz

min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mm Hg	Milímetros de mercurio
m s. n. m.	Metros sobre el nivel del mar
N	Norte
nm	Nanómetro
O	Oeste
OMS	Organización Mundial de la Salud
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia magnética nuclear
RMN ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
RMN ¹ H	Resonancia magnética nuclear de hidrógeno
rpm	Revoluciones por minuto
s	Singlete
sa	Singlete ancho
SP	Compuesto obtenido de las fracciones del extracto de <i>S. tuberosum</i>
t	Triplete
t/ha	Toneladas por hectárea
TOL	Tolueno
T _R	Tiempo de retención
UV	Ultravioleta
µg	Microgramo
µL	Microlitro
µM	Micromolar
µm	Micrometro
%	Porcentaje
% A	Porcentaje de area
°	Grado
'	Minutos
''	Segundos
δ	Desplazamiento químico
δ _C	Desplazamiento de carbono
δ _H	Desplazamiento de hidrógeno

Introducción

La hipertensión arterial, es considerada un problema de salud pública mundial al ser la causa de muerte de millones de personas y ser el origen de distintas afecciones y procesos degenerativos cardiovasculares. Aunque se han logrado grandes avances en prevención primaria para evitar el desarrollo de la enfermedad, su etiología desconocida y origen multifactorial, dificultan encontrar un tratamiento efectivo para las miles de personas que ya la padecen (OMS, 2013).

Actualmente, los tratamientos incluyen fármacos que atacan algunos fenómenos de gran repercusión terapéutica sobre esta enfermedad. Por ejemplo, los antiagregantes plaquetarios, que han permitido disminuir considerablemente eventos cardiovasculares mayores en pacientes coronarios. Sin embargo, estos medicamentos presentan riesgos de efectos secundarios, generando la necesidad de seguir en la búsqueda de tratamientos eficaces con menos repercusiones en la salud (Mancia *et al.*, 2013).

Por esta razón, la investigación en productos naturales representa una fuente inestimable para el descubrimiento de nuevas sustancias activas, si se considera que cada especie puede contener cientos de metabolitos secundarios que pueden presentar actividades biológicas interesantes, como los antihipertensivos y antiagregantes plaquetarios. Asimismo, con el desarrollo de la ciencia, la tecnología, la investigación química y la industria farmacéutica, se ha prestado un gran interés por descubrir los componentes activos de las plantas que ayuden a combatir enfermedades como la hipertensión arterial, arterosclerosis y otras afecciones cardiovasculares.

Adicionalmente, en países diversos como Colombia, se han encontrado reportes etnobotánicos de la especie *Solanum tuberosum*, perteneciente a la familia Solanaceae y comúnmente llamada “papa”, como tratamiento para la hipertensión arterial (Berdonces, 2004). Dicho potencial ha sido corroborado por algunas investigaciones llevadas a cabo

en el Departamento de Farmacia de la Universidad Nacional de Colombia, donde se han encontrado metabolitos y fracciones activas aisladas del tubérculo para el tratamiento de estas enfermedades. Además, se recomienda continuar con los estudios fitoquímicos de la cáscara o peridermis del tubérculo cuya actividad es promisorio (Buitrago, 2011).

En consecuencia, este proyecto busca continuar y contribuir a estos estudios, evaluando el efecto hipotensor de fracciones apolares en rata desmedulada y la actividad antiagregante plaquetaria en el extracto, fracciones y metabolitos que puedan ser aislados e identificados del extracto etanólico de la peridermis de *S. tuberosum*, variedad sabanera.

1. Marco teórico

1.1 Hipertensión arterial

La hipertensión arterial (HTA), es definida como la elevación de los valores considerados normales de presión sanguínea sistólica, es decir, cuando el corazón se contrae, y de presión sanguínea diastólica, o cuando el corazón se relaja (Tabla 1-1) (OMS, 2013). Ésta enfermedad constituye el principal riesgo de enfermedad cardiovascular y es la responsable de diversos procesos degenerativos agudos y crónicos que afectan principalmente las arterias y órganos vitales como el corazón y los riñones (Rosendorff *et al.*, 2015; Mancia *et al.*, 2013).

Tabla 1-1: Clasificación de la hipertensión arterial.

Categoría	Presión arterial sistólica (mm Hg)	Presión arterial diastólica (mm Hg)
Óptima	< 120	< 80
Normal	120 - 129	80 - 84
Pre-hipertensión	130 - 129	85 - 89
Grado I (leve)	140 - 159	90 - 99
Grado II (moderada)	160 - 179	100 - 109
Grado III (severa)	> 180	> 110

Adicionalmente, la HTA cobra anualmente millones de vidas humanas al ser la primera causa de morbilidad y mortalidad cardiovascular, pues de ella se derivan afecciones como la enfermedad coronaria, falla cardíaca, eventos cerebrovasculares y falla renal, convirtiéndose en un problema de salud pública mundial y en un obstáculo para la buena salud de acuerdo a entidades como la *Organización mundial de la Salud* (OMS) y el *Banco Mundial* (OMS, 2013).

De igual forma, la prevalencia de la enfermedad es alta, pues algunos estudios indican que cerca de un 20 % de la población en general puede sufrir HTA, además, este porcentaje aumenta con la edad, llegando al 50 % en personas que rondan los 50 años y el 65 % en mayores de 80 años (Báez *et al.*, 2007). En Colombia, la mortalidad por HTA como causa básica en el año 2014, alcanzó una cifra de 5.157 muertes por cada 100.000 habitantes, convirtiéndose al igual que en otros países del mundo en una enfermedad de gran impacto en la salud pública nacional (Vargas, Valencia y Castañeda, 2015)

Uno de los principales problemas para combatir la enfermedad, es que existen varios factores que incrementan el riesgo de padecer HTA y sus complicaciones, y que, de acuerdo a su etiología, permiten clasificar la HTA como primaria o secundaria. La primaria, conocida también como hipertensión esencial o idiopática, es la que se halla en la mayoría de los pacientes (cerca del 95 %) y no posee una causa identificable. Sin embargo, suele ser atribuida a factores sociales como el envejecimiento; a factores conductuales como el tabaquismo, sedentarismo, consumo excesivo de alcohol y alimentación no balanceada; a factores sociales como el estrés causado por la industrialización, migración e ingresos económicos; y por último, a factores genéticos o metabólicos como la obesidad, la diabetes y el primer grado de consanguinidad (Buitrago, 2011; Báez *et al.*, 2007).

Por otro lado, la HTA secundaria ocurre en pocos casos (5 % aproximadamente) y tiene una causa determinada, por ejemplo: el uso de algunos medicamentos; desórdenes neurológicos, renales y endocrinos; coartación aórtica; toxemia del embarazo y el estrés agudo como en el caso de las intervenciones quirúrgicas, entre otros (Buitrago, 2011).

Para prevenir el desarrollo de esta enfermedad, se han venido realizando grandes esfuerzos a nivel mundial en prevención primaria, esto involucra principalmente cambios comportamentales dirigidos al aumento de la actividad física, control del peso corporal, dejar de fumar y el mejoramiento de la dieta que incluye disminuir el consumo de sal y alcohol, logrando buenos resultados en la reducción del riesgo cardiovascular (Rosendorff *et al.*, 2015; Mancia *et al.*, 2013; OMS, 2013). Sin embargo, también es importante resaltar los avances obtenidos por prevención secundaria, que contempla el ataque farmacológico sobre fenómenos de gran repercusión terapéutica, por ejemplo, el fenómeno de placa

ateromatosa, cuyo tratamiento con fármacos antiagregantes plaquetarios como el ácido acetilsalicílico ha sido exitoso, permitiendo una tendencia considerable a disminuir eventos cardiovasculares mayores y la mortalidad de pacientes coronarios (Mancia *et al.*, 2013).

A pesar de encontrar en los antiagregantes plaquetarios una ayuda terapéutica eficiente contra la HTA, existen otros problemas secundarios relacionados con su consumo, pues un fármaco antiagregante plaquetario ideal, es efectivo vía oral, inhibe o estimula la inhibición de las vías de activación plaquetaria, tiene potencia antitrombótica, presenta bajo riesgo de hemorragia y está provisto de baja toxicidad sistémica. No obstante, entre los medicamentos disponibles en el mercado actual, ninguno satisface esas necesidades totalmente (Awtry y Loscalzo, 2000; Espitia, 2014).

Por otro lado, la HTA también favorece los procesos que acompañan el desarrollo y complicaciones de la aterosclerosis, como lo son el estrés hemodinámico, la disfunción endotelial, el estrés oxidativo y la inflamación vascular. A su vez, estas complicaciones favorecen las alteraciones disfuncionales y morfológicas de las células endoteliales, que producen la activación de algunos sensores en la membrana celular y cascadas de señalización intracelulares, activando la sobreexpresión de agentes oxidantes e inflamatorios que dañan la pared endotelial y dejan expuestos los receptores plaquetarios que determinan la adhesión, agregación y formación de trombos plaquetarios (Knight, 2003).

Como consecuencia, la acumulación de plaquetas y otros componentes sanguíneos como los leucocitos a partir de los procesos inflamatorios en la pared vascular, dan lugar a la aterotrombosis, procesos inflamatorios crónicos y lesión aterosclerótica (Knight, 2003). Por esta razón, inhibir la activación plaquetaria se considera una forma efectiva de ralentizar o detener la trombosis, haciendo de las pruebas de agregación plaquetaria una herramienta útil para evaluar, investigar y tratar la enfermedad cardiovascular (Cen *et al.*, 2017).

Teniendo en cuenta lo anterior y considerando que el estudio de las plantas es de gran relevancia para el descubrimiento de todo tipo de sustancias de interés biológico, como los antihipertensivos y antiagregantes plaquetarios. Es importante continuar con la búsqueda de nuevos tratamientos o alternativas farmacológicas más eficientes, donde los productos naturales, por su diversidad química y biológica han constituido la principal

fuentes de este tipo de metabolitos y tratamientos a lo largo de la historia, en parte, por irse posicionando como una alternativa segura, fácil, económica y con menores efectos secundarios (Awtry y Loscalzo, 2000; Vaghasiya, Dave y Chanda, 2011).

1.2 Fenómeno de agregación plaquetaria

Las plaquetas, son fragmentos celulares producidos a partir del desprendimiento de grandes cantidades de la membrana externa de los megacariocitos de la médula ósea. Estos fragmentos tienen forma discoidal y un tamaño aproximado que oscila entre 2,0 y 3,0 μm de diámetro y 0,5 μm de espesor. Por su forma y tamaño, estas viajan fácilmente a través del torrente sanguíneo hacia los vasos sanguíneos donde se encuentran en posición óptima para vigilar constantemente la integridad vascular, pues son las principales reguladoras de la hemostasis y participan en los procesos de angiogénesis e inmunidad innata (Faggio *et al.*, 2017).

En el cuerpo humano, las plaquetas circulan en concentraciones de 150.000 a 450.000 células/mL que corresponden a un 70 % del total, mientras que el otro 30 % permanece de manera transitoria pero constante en el bazo durante su tiempo de vida media que se estima en unos 7 a 10 días (López y Macaya, 2013; Buitrago, 2011). La función de las plaquetas en los procesos de hemostasia y trombosis se lleva a cabo en cuatro etapas que son: la adhesión plaquetaria, el cambio de forma, la agregación plaquetaria y por último los fenómenos de secreción y formación de microvesículas.

La primera etapa o **adhesión plaquetaria**, inicia al sufrir una lesión en la pared vascular, donde quedan expuestos ligandos como el colágeno y el factor de Von Willebrand, que se encontraban ocultos en las capas subyacentes del endotelio en condiciones fisiológicas normales, evitando su contacto con las plaquetas. Una vez expuestos, se inicia la activación del área lesionada formando un trombo, dado por la captura inicial de plaquetas circundantes a la lesión, que gracias a un receptor específico se adhieren a las fibrillas de colágeno del subendotelio vascular (García y Coma, 2000; Espitia, 2014).

Posterior a la adhesión, las plaquetas inician la segunda etapa o **cambio de forma**, donde pasan de su forma discoidal tradicional a estructuras más esféricas, esto se da, debido a la reorganización de sus microtúbulos, que le otorgan mayor volumen y por ende mayor superficie de contacto (García y Coma, 2000; Espitia, 2014).

A su vez, la adhesión de las plaquetas genera un flujo transmembrana que produce señales de transducción activando otros receptores de tipo glicoproteínas de la membrana plaquetaria desencadenando la **agregación plaquetaria**. Este proceso, genera un tapón mecánico que atrae nuevas plaquetas que se adhieren, secretan y agregan, sellando la lesión e impidiendo la salida de sangre. Al mismo tiempo, el tapón plaquetario estimula los procesos de coagulación local de la fibrina que refuerza el agregado plaquetario (García y Coma, 2000; Monteiro, O'Connor y Martínez, 2001; Buitrago, 2011)

Posteriormente, con el aumento del calcio citoplasmático y de interacciones de agonistas como el colágeno, el ADP y las proteínas contráctiles como actina y misiona, entre otras; se estimula la contracción plaquetaria y se facilitan los **fenómenos de secreción** al medio circundante, donde se vierten sustancias vasoactivas como el ADP, serotonina, epinefrina y otras; provenientes de los gránulos densos que producen vasoconstricción y activan los fosfolípidos de la membrana plaquetaria. Estos últimos, favorecen aún más la agregación plaquetaria por ser activos mensajeros intracelulares y tener gran importancia en procesos fisiopatológicos (García y Coma, 2000; Monteiro, O'Connor y Martínez, 2001; Buitrago, 2011).

Al mismo tiempo que se activan las plaquetas, en su interior se da lugar a la **formación de microvesículas**, caracterizadas por sus propiedades procoagulantes al estar constituidas por fosfolípidos aniónicos en la cara externa de su membrana, proporcionando una superficie catalítica para la unión de complejos enzimáticos de la cascada de coagulación (García y Coma, 2000; Monteiro, O'Connor y Martínez, 2001; Buitrago, 2011)

Como se vio anteriormente, las plaquetas cumplen un rol fisiológico importante en los procesos de hemostasia por medio de la agregación plaquetaria, fenómeno considerado como uno de los sistemas de defensa más importantes del organismo. Sin embargo, este evento también tiene un papel importante como mediador en la fisiopatología de algunas enfermedades como la formación de placa ateromatosa y trastornos trombóticos e

inflamatorios. Por lo tanto, se considera que inhibir la activación plaquetaria es una forma efectiva de evitar la trombosis, de allí, el interés por encontrar nuevos metabolitos o tratamientos que inhiban o controlen parcialmente la capacidad de activación plaquetaria (López y Macaya, 2013; Faggio *et al.*, 2017; Cen *et al.*, 2017).

1.3 Productos naturales con actividad antihipertensiva o antiagregante plaquetaria

El continuo interés del ser humano por encontrar la cura para sus dolencias y enfermedades, ha hecho de los productos naturales y en particular de las plantas, por su alto contenido y variedad de sustancias químicas, su principal fuente de tratamientos y principios activos para combatir patologías como la hipertensión arterial, las arritmias cardíacas, la insuficiencia cardíaca y la hipercolesterolemia, entre otros. Lo anterior, permite que se encuentren numerosos reportes de usos etnobotánicos, tratamientos naturales o metabolitos activos para tratar las afecciones cardiovasculares, como se observa en la Tabla 1-2.

En Colombia y particularmente en el Departamento de Farmacia de la Universidad Nacional de Colombia, se han llevado a cabo algunas investigaciones en plantas, que de acuerdo a reportes de medicina tradicional, tienen el efecto de aliviar la hipertensión arterial, como es el caso de la decocción de la cáscara del tubérculo de la especie *S. tuberosum* (Berdonces, 2004). De esta especie, se han obtenido extractos, fracciones y compuestos de los tubérculos de las variedades pastusa y sabanera, sometidos a diferentes tipos de ensayos con el fin de comprobar su potencial terapéutico, identificar los metabolitos responsables de dicha actividad y estudiar sus mecanismos de acción.

Estos trabajos, han logrado verificar el efecto hipotensor del extracto etanólico de *S. tuberosum* variedad sabanera en rata desmedulada, no obstante, al hacer el estudio fitoquímico del extracto, no se pudo atribuir dicha actividad a sus metabolitos mayoritarios como la α -chaconina, α -solanina y ácido clorogénico (Guerrero, Carrón y Martín, 2003; Gómez y Guerrero, 2009). Sin embargo, estudios posteriores atribuyen parte del efecto

hipotensor del extracto, a otros compuestos como el ácido caféico, que inhibe la contracción de anillos de aorta en rata inducidos con angiotensina II (Buitrago, 2011).

Tabla 1-2: Reportes de especies utilizadas con fines cardiovasculares.

Espece	Formulación empleada	Actividad biológica	Bibliografía
<i>Allium cepa</i> L. y <i>Allium sativum</i> L.	En ambas especies se encontraron adenosina, alicina y polisulfuros parafínicos que muestran actividad antiagregante en ensayos <i>in vivo</i> .	Actividad antiagregante plaquetaria	(Makheja, A., y Bailey, J., 1990)
<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Extractos acuosos y metanólicos del tomate mostraron inhibición de la agregación plaquetaria (70 %) en ratas Wistar.	Actividad antiagregante plaquetaria	(Fuentes <i>et al.</i> , 2012)
<i>Pleurotus florida</i>	El extracto metanólico del hongo inhibe la agregación plaquetaria en más de un 85 % frente a ADP.	Actividad antiagregante plaquetaria y antiinflamatoria	(Nayana, Ajith, y Janardhanan, 2004)
<i>Croton schiedeanus</i>	El extracto acuoso tiene efectos antihipertensivos y vasorelajantes en ratas hipertensas espontáneamente.	Actividad antihipertensiva y vasorelajante	(Guerrero <i>et al.</i> , 2001)

De igual forma, estudios de agregación plaquetaria de los extractos etanólicos de *S. tuberosum* de las variedades pastusa y sabanera, muestran efectos antiagregantes *in vitro* en plaquetas humanas (Buitrago *et al.*, 2007). Este efecto en parte, fue atribuido posteriormente a compuestos de tipo C_6C_3 y fracciones de tipo apolar compuestas principalmente por ésteres de ácido graso presentes en el extracto etanólico de la variedad pastusa, en el mismo estudio, se sugiere continuar con otros ensayos biológicos sobre estos compuestos y fracciones para verificar su efecto positivo sobre el sistema cardiovascular (Buitrago, 2011).

De acuerdo a lo anterior, este proyecto de investigación continua y contribuye con el estudio fitoquímico de la peridermis del tubérculo, para aislar e identificar compuestos que puedan ser responsables de los efectos hipotensores o antiagregantes plaquetarios, teniendo en cuenta que la especie *S. tuberosum* es una potencial fuente farmacológica de

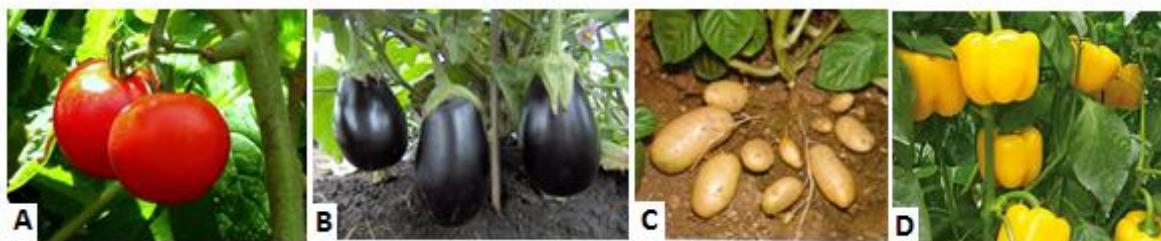
medicamentos para tratar trastornos cardiovasculares. Además, las diferentes variedades de la especie como la sabanera, pueden presentar diferencias en su composición química que den lugar al descubrimiento de otros metabolitos activos.

1.4 Familia Solanaceae

Es una familia diversa y ampliamente distribuida a nivel mundial, pertenece al orden de los Solanales, el cual está conformado por un grupo de cinco familias: Convolvulaceae, Montiniaceae, Sphenocleaceae, Hydroleaceae y Solanaceae, siendo esta última la que abarca el mayor número de especies (Eirch, 2008).

La familia está compuesta por aproximadamente un centenar de géneros y más de 2700 especies (Eirch, 2008), destacadas por su importancia económica al ser comestibles como el tomate (*Solanum lycopersicum*), la berenjena (*Solanum melongena*), las patatas (*Solanum tuberosum*) y los pimientos ó ajíes del género *Capsicum* (Figura 1-1); también son usadas en cultivos industriales como el tabaco (*Nicotiana tabacum*), cultivos medicinales como la belladona (*Atropa belladonna*) y para usos ornamentales como la petunia (*Petunia hybrida*) (Judd *et al.*, 2010; Woodland, 2009; Simpson, 2010).

Figura 1-1: Especies representativas de la familia Solanaceae.

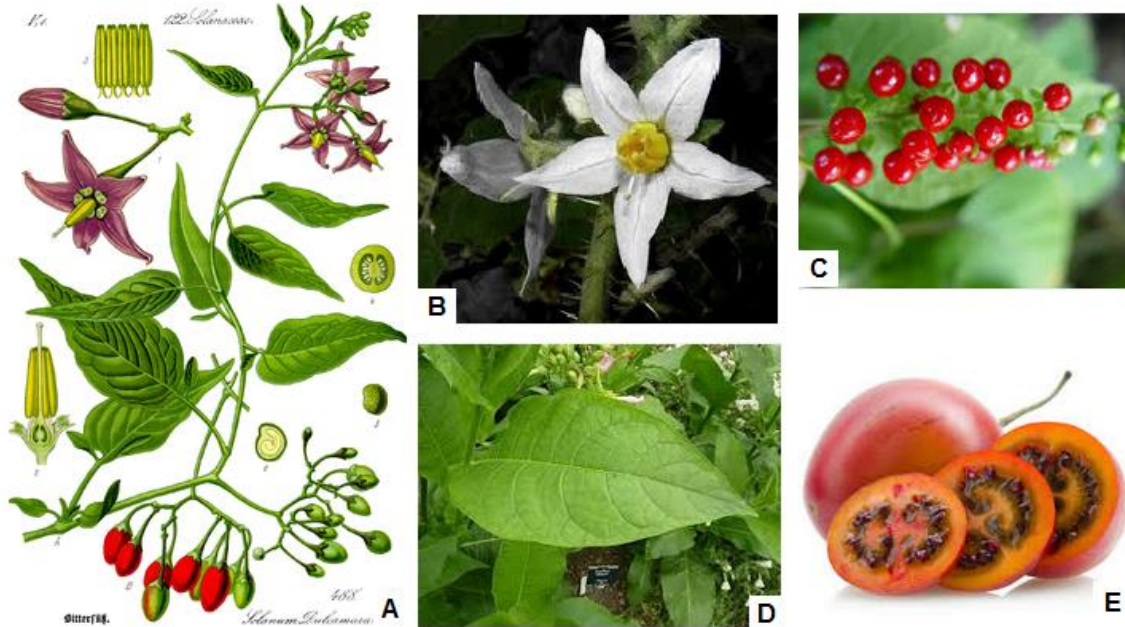


A. Tomate (*Solanum lycopersicum*), **B.** Berenjena (*Solanum melongena*), **C.** Tubérculo de papa (*Solanum tuberosum*) y **D.** Pimientos o ajíes del género *Capsicum*.

Morfológicamente, son plantas muy diversas (Figura 1-2) y presentes en su mayoría como hierbas, enredaderas, árboles o arbustos; su madera usualmente blanda; las hojas simples, alternas y sin estípulas; las inflorescencias terminales, axilares o entre los nudos y frecuentemente cimosas, paniculadas o racimosas; las flores actinomorfas, formadas

normalmente por cinco sépalos y cinco pétalos soldados en corolas de morfología diversa; los frutos pueden ser bayas o cápsulas y las semillas usualmente numerosas, prismáticas, a veces aladas o aplanadas (Judd *et al.*, 2010; Woodland, 2009; Simpson, 2010).

Figura 1-2: Características morfológicas de la familia Solanaceae.



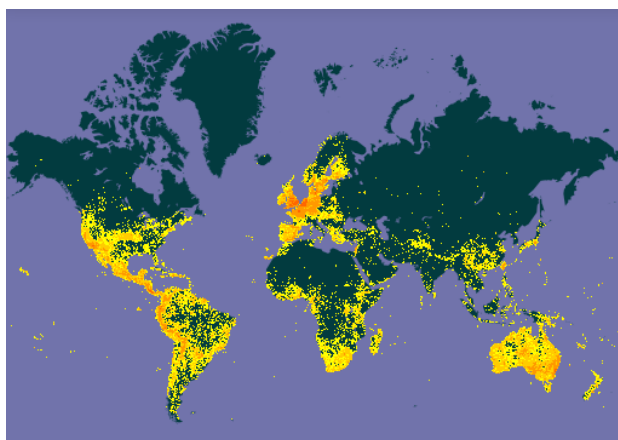
A. Morfología de la familia Solanaceae. **B.** Flores de *S. tuberosum*. **C.** Frutos de *Lycium sandwicense*. **D.** Hojas de *N. tabacum* y **E.** Frutos de *Solanum betaceum*.

La familia Solanaceae, está ampliamente distribuida pues ha colonizado prácticamente casi todas las regiones del planeta a excepción de las regiones árticas (Figura 1-3) (Global Biodiversity Information facility, 2015). Las especies de la familia se encuentran principalmente en los trópicos y subtrópicos donde se han adaptado a casi todo los hábitats, desde los más secos hasta los más húmedos (Judd *et al.*, 2010; Woodland, 2009; Simpson, 2010). En Colombia, se han reportado especies de la familia en todas las regiones del territorio nacional, especialmente en los sistemas montañosos de la cordillera de los Andes (Berdonces, 2004).

Dentro de la etnobotánica, la familia presenta una amplia variedad de usos y aplicaciones, por ejemplo, los tallos y raíces de la especie *Solanun arrebenda* son usados en infusión por sus propiedades como diurético, estimulante y depurativo del metabolismo, para el

tratamiento de afecciones reumáticas, gota y afecciones crónicas de la piel. Por otro lado, especies como *Nicotiana tabacum*, al contener alcaloides se convierten en potentes narcóticos, diuréticos, sedantes y vomitivos que presentan además efectos tóxicos, sin embargo, también se usan como aplicación externa para contrarrestar afecciones cutáneas (Berdonces, 2004).

Figura 1-3: Distribución geográfica a nivel mundial de la familia Solanaceae.



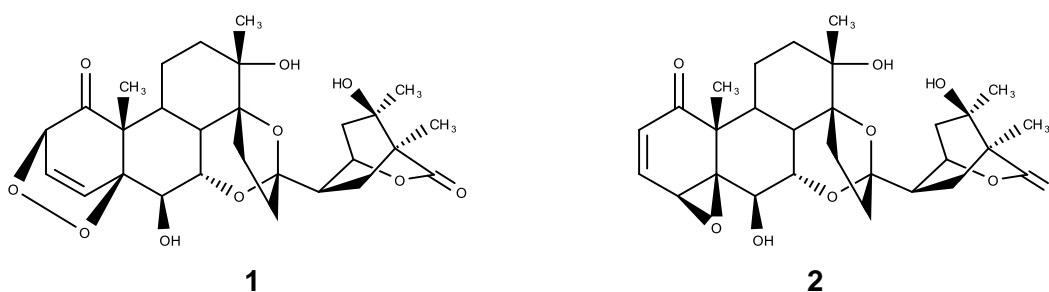
De igual forma, en la familia se han encontrado numerosos estudios con reportes de actividad biológica, por citar algunos ejemplos tenemos (Tabla 1-3).

Tabla 1-3: Actividad biológica reportada en especies de la familia Solanaceae.

Especie	Formulación empleada	Actividad biológica	Bibliografía
<i>Capsicum chacoense</i>	Frutas	Contra afecciones hepáticas, rubefaciente y alivia dolores reumáticos.	(Goleniowski, 2004)
<i>Cestrum parqui</i>	Hojas	Antihemorroidal, anticáncerígeno, antiespasmódico, diaforético y carminativo.	(Goleniowski, 2004)
<i>Petunia axillaris</i>	Hojas	Narcótico y tóxico	(Goleniowski, 2004)
<i>Deprea orinocensis</i>	Las hojas contienen lactonas (withanólidos)	Actividad leishmanicida	(Casero, 2015)
<i>Deprea asubtriflora</i>	Las hojas contienen lactonas (subtrifloralactonas)	Actividad quimiopreventiva del cáncer	(Casero, 2015)

Las especies de la familia Solanaceae producen una gran variedad de metabolitos secundarios que han sido asociados a la defensa y protección de la planta, dentro de estos se destacan los alcaloides tropánicos, alcaloides esteroides, ecdysteroides, sesquiterpenos, diterpenos, antraquinonas, saponinas esteroides, sapogeninas, terpenos pentacíclicos y withanólidos, entre otros (Cardona, 2011).

Los withanólidos, son un grupo de lactonas esteroidales sustituidas que han sido considerados quiomarcadores en especies de la familia Solanaceae, pues se han encontrado reportes en más de 22 géneros. Asimismo, son de gran interés científico por sus potenciales usos medicinales como antitumorales, antimicrobianos, antiinflamatorios, antialimentarios, insecticidas, leishmanicidas y presentar actividad citotóxica, entre otras (Schirmer *et al.*, 2014). Algunos ejemplos de estos compuestos son la physangulidina G **1** y physangulidina H **2** aislados de las hojas de *Deprea zamorae* (Casero *et al.*, 2015).



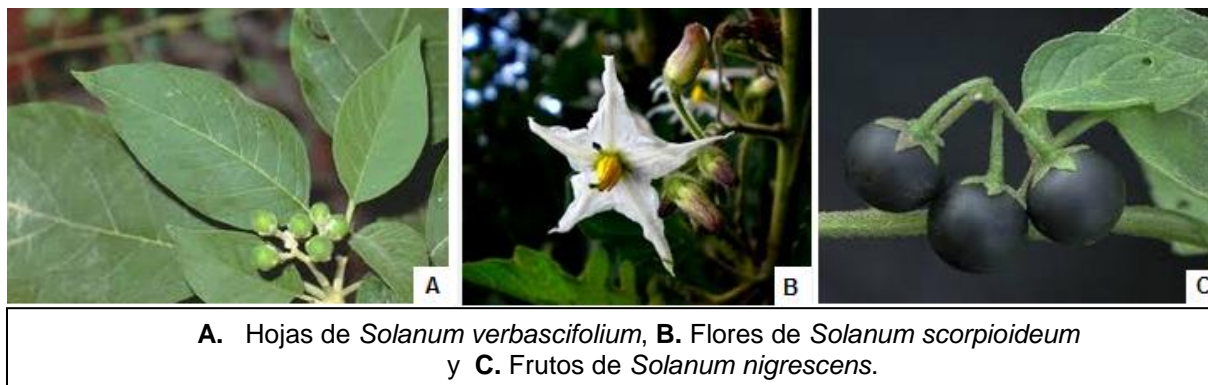
1.5 Género *Solanum*

Compuesto por más de 1400 especies, éste género es uno de los más grandes del reino vegetal. De acuerdo a su etiología, el nombre pudo provenir del latín *Solare*, que significa consolar o confortar, debido a las propiedades calmantes y medicinales atribuidas a muchas de sus especies. Sin embargo, otros autores sugieren su origen del latín *sol*, que significa sol, debido a la forma estrellada de las flores (Fonnegra, 2007; Cardona, 2011).

Las especies del género *Solanum* comprenden una amplia variedad de plantas, desde hierbas anuales hasta arbustos, lo que explica también su diversidad morfológica (Figura 1-4). Las hojas de estas especies pueden ser alternas, opuestas o geminadas, simples o

compuestas, glabras o pubescentes, frecuentemente desiguales en tamaño, lobuladas o compuestas, pecioladas o sésiles y sin estípulas; sus flores, son generalmente actinomorfas de cinco pétalos, cáliz, corola y cinco estambres, anteras dehiscentes, néctar ausente y pueden ser unisexuadas o hermafroditas; sus frutos, son de morfología variable, pueden ser bayas suaves de colores brillantes, secas de colores brillantes, suaves verdosas, duras de color amarillo verdoso o secas encerradas por un cáliz (Cardona, 2011).

Figura 1-4: Morfología del género *Solanum*.



Debido a su crecimiento espontáneo y fácil adaptación a climas y geografía, las especies del género se encuentran ampliamente distribuidas a nivel mundial, la mayor parte de ellas se encuentran concentradas en la Amazonía tropical (América del Sur), donde una tercera parte son endémicas y las dos terceras partes restantes tienen representación nativa (Cardona, 2011).

La amplia variedad de estas especies, ha logrado satisfacer las necesidades de los seres humanos por mucho tiempo, en especial tratamientos alternos a los farmacológicos. Por ejemplo, en la región Amazónica de Colombia, los indígenas Kubeos secan y pulverizan el fruto de *Solanum apaporanum* para aplicarlo sobre el cuerpo como repelente; en otras regiones del país, se ingieren los frutos de *Solanum stramonifolium* para la contención de hemorragias (Cardona, 2011).

En otros países como Taiwán, se usa la decocción de *Solanum liximitante* para el alivio de la tos. En Brasil, la infusión de tallos jóvenes y corteza de la raíz de *Solanum arrebenda*

conocida como “Jagueribo”, tienen acción atropínica sobre el sistema nervioso acompañado de una acción narcótica suave, atribuida a los alcaloides como la solanina, dulcamarina y solamarina, entre otros, por esta razón, se usa tradicionalmente para el tratamiento de asma y tos espástica. En Perú, de la especie *Solanum mammosum* conocido como “Pusanga de gallina”, se usan los frutos macerados de manera tópica para tratar afecciones de la piel, como las causadas por hongos y ulceraciones; la decocción de sus hojas, también es usada como diurético en los casos de retención de líquidos y cálculos renales (Berdonces, 2004).

Dentro del género *Solanum*, se han encontrado varios estudios con reportes de actividad biológica, como se observa en la Tabla 1-4.

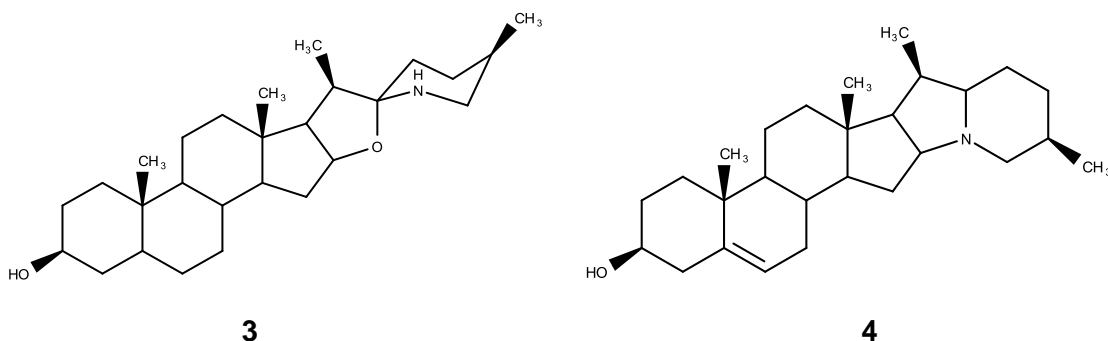
Tabla 1-4: Actividad biológica confirmada de algunas especies del género *Solanum*.

Especie	Formulación empleada	Actividad biológica	Bibliografía
<i>Solanum sisymbriifolium</i>	Hojas y Tallos	Analgésico, anti-inflamatorio, contra afección hepática y sedante.	(Goleniowski, 2004)
	Compuestos como colina, cuscohigrina, solacaproína, solanina y solasodina presente en diferentes partes de la planta.	Diurético, analgésico, anticonceptivo, antisifilítico, hepatoprotector y para el tratamiento contra la hipertensión.	(Ibarrola <i>et al.</i> , 2011)
<i>Solanum paludosum</i>	Los flavonoides metoxilados presentes en los extractos de hojas.	Actividad antioxidante y antibacterial	(Siquiera <i>et al.</i> , 2011)
<i>Solanum paniculatum</i>	Saponinas esteroidales presentes en las hojas.	Actividad antiulcerosa	(Vieira <i>et al.</i> , 2015)

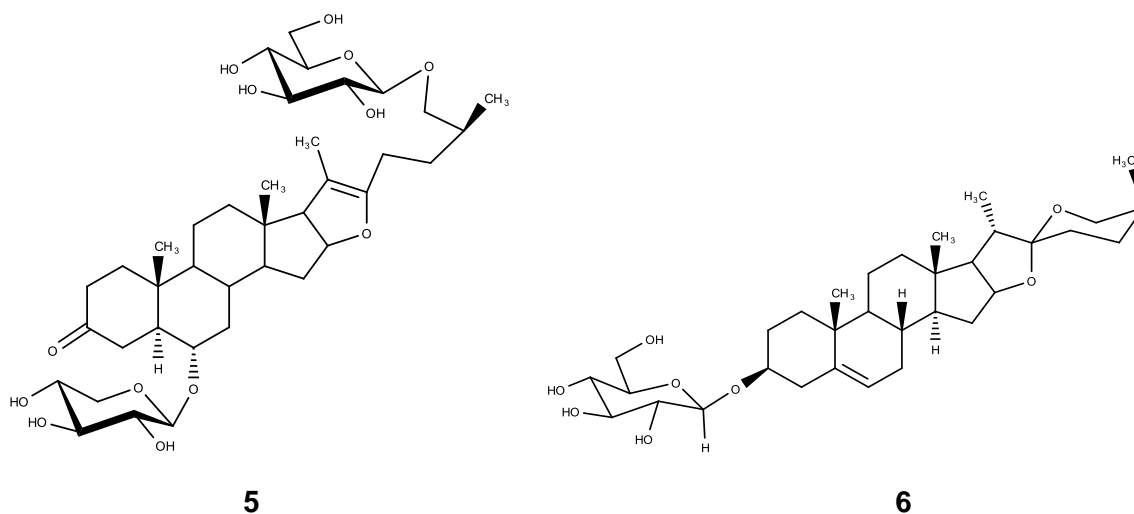
El género *Solanum*, ha sido ampliamente estudiado gracias al potencial alimenticio y económico que presentan varias de sus especies, siendo reportados un significativo número de metabolitos dentro de los que se destacan los alcaloides y saponinas (Cardona, 2011).

Los alcaloides esteroidales y sus formas glicosidadas, son considerados tóxicos y empleados por la planta como barrera química contra plagas y patógenos. Este tipo de

metabolitos, presentan un amplio rango de actividades biológicas como antifúngicos, antivíricos, antihepatotóxicos, embriotóxicos y para la inhibición tumoral. Algunos ejemplos de estos compuestos son: la tomatidina **3** aislada del tomate (*Solanum lycopersicum*) y la solanidina **4** aislada de la papa (*Solanum tuberosum*) (Cardona, 2011; Cárdenas *et al.*, 2015).



Otros metabolitos comúnmente encontrados en diferentes especies del género son las saponinas esteroidales, dentro de ellas encontramos estructuras como el (25S)-26-(β -D-glucopiranosiloxi)-3-oxo-22 α -methoxi-5 α -furostan-6 α -yl-O- β -D-xilopiranosido **5** aislado de los frutos de *Solanum torvum* (Colmenares *et al.*, 2013) y el diosgenin β -D-glucopiranosido **6** aislado de hojas y tallos de *Solanum paniculatum* L., el cual tiene efecto antiulceroso a bajas concentraciones sobre úlcera gástrica inducida en ratas con etanol (Vieira *et al.*, 2015).



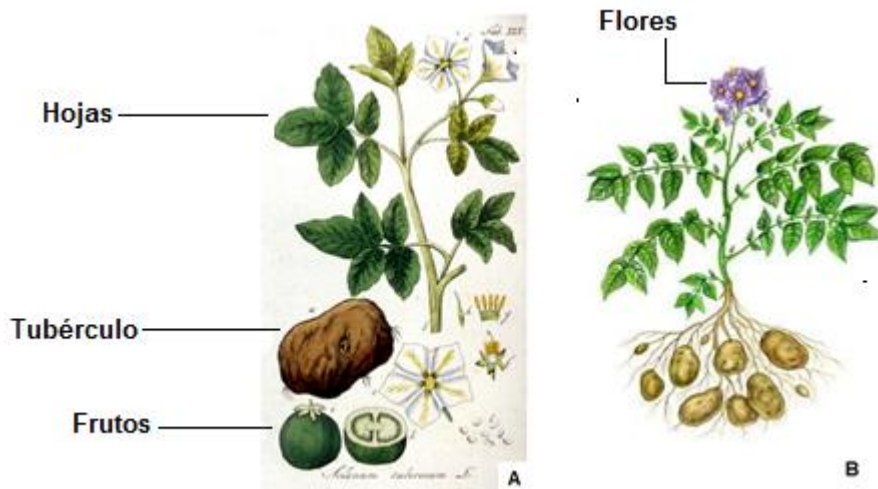
1.6 Especie *Solanum tuberosum*

La especie *Solanum tuberosum* (Figura 1-5) es cultivada en diferentes países y regiones donde es comúnmente conocida como “patata”, “papa”, “turma”, “chaucha”, “trumfa”, “batateira” y “pataca” (Berdonces, 2004). En la Tabla 1-5, se observa su clasificación taxonómica (Global Biodiversity Information Facility, 2015).

Tabla 1-5: Clasificación taxonómica de la especie *S. tuberosum*

Categoría	Nombre
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Subfamilia	Solanoideae
Tribu	Solaneae
Género	<i>Solanum</i>
Epíteto Específico	<i>Tuberosum</i>
Especie	<i>Solanum tuberosum</i>

Figura 1-5: Papa, especie representativa de la familia Solanaceae.



A. Partes de la planta y **B.** Planta completa.

La especie es originaria de una región limítrofe entre sur de los Andes del Perú y el noreste de Bolivia en América de Sur, aunque extendida por todo el continente americano antes de la llegada de los españoles, y actualmente cultivada en todo el mundo (Figura 1-6) tras

del descubrimiento de América (Global Biodiversity Information Facility, 2015). Esta planta tardó en aceptarse en algunas regiones de Europa, por las sustancias tóxicas contenidas en las hojas que los europeos pretendían comer tras su introducción en el continente (Berdonces, 2004; Navarre y Pavek, 2014).

Figura 1-6: Distribución geográfica a nivel mundial de la especie *S. tuberosum*.



Morfológicamente, es una planta herbácea vivaz (Figura 1-7), con tallos que alcanzan hasta unos 80 cm; las hojas son velludas, compuestas pinnadas, divididas en 7 a 12 segmentos divididos a su vez; las flores, de color blanco o violeta, tienen cinco pétalos y cinco sépalos, están agrupadas en cimas terminales densas; los frutos, son bayas globulares de color verdoso o violáceo, con numerosas semillas reniformes (Berdonces, 2004).

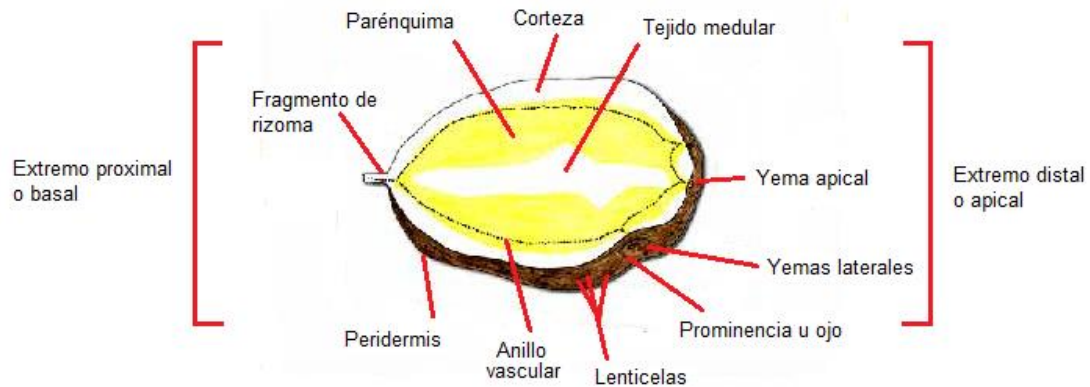
Figura 1-7: Algunas características morfológicas de la especie *S. tuberosum*.



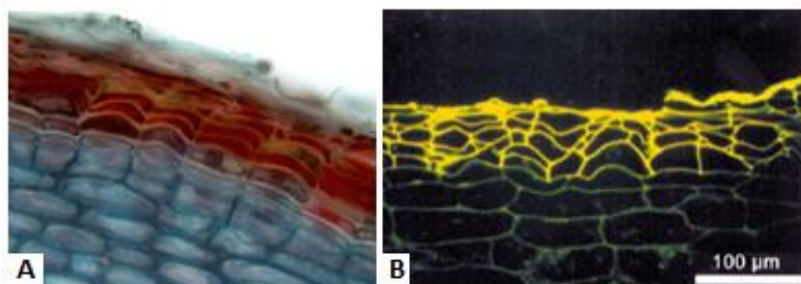
A. Flores, B. Hojas, C. Frutos y D. Tubérculo.

Una de las partes más importantes de la planta y en la cual se centra este trabajo de investigación son los tubérculos, que morfológicamente (Figura 1-8), son tallos subterráneos modificados (acortados, engrosados y provistos de yemas) con dos extremos: el basal o extremo ligado al estolón y el extremo opuesto llamado distal o apical. A nivel de su anatomía se distinguen las siguientes zonas: peridermis, corteza, anillo vascular, parénquima, médula y brotes (Fedepapa, 2015).

Figura 1-8: Características estructurales del tubérculo de la especie *S. tuberosum*.



La peridermis o peridermo, es la piel del tubérculo conformada por 6 a 14 capas de células corchosas, que incluyen pequeños poros o lenticelas que facilitan el intercambio gaseoso. A su vez, es la encargada de controlar la pérdida de humedad y proteger el tubérculo contra agresiones bióticas y abióticas (Graça *et al.*, 2015); *la parénquima*, es el extremo de almacenamiento y abarca la mayor parte del tubérculo, es rico en almidón y está conformado por la corteza y el anillo vascular; *la corteza*, es una estrecha capa de tejido parenquimatoso localizado por debajo de la peridermis, las capas más externas de la corteza contienen proteínas, gránulos de almidón y pigmentos; *el anillo vascular*, es una delgada capa conformada por el xilema y el floema donde circula agua y nutrientes, este anillo hace contacto entre el estolón y los ojos; *la médula*, es la parte central del tubérculo constituida por células grandes y transparentes de almacenamiento que forman la parénquima; y *los brotes*, cuyo crecimiento se da en las yemas ubicadas en los ojos del tubérculo, son los encargados de producir nuevas raíces rápidamente después de la siembra (Fedepapa, 2015; Navarre y Pavek, 2014). En la Figura 1-9, se observan imágenes del tejido de la peridermis utilizando técnicas como la tinción con Sudan III/IV (Lulai y Freeman, 2001).

Figura 1-9: Peridermis del tubérculo de la especie *S. tuberosum***A.** Peridermis del tubérculo y **B.** Tejidos de peridermis del tubérculo teñidos con Sudan III/IV.

De acuerdo con la *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura* (FAO), los tubérculos de la especie son muy nutritivos y considerados uno de los primeros alimentos del planeta después del arroz, el trigo y el maíz. Dentro de su composición y usos etnobotánicos, se han encontrado glucoalcaloides como la solanina, potente inhibidor de la secreción gástrica por lo que ingerida a través del jugo del tubérculo, es efectiva para tratar la gastritis e hiperclorhidria del estómago; terpenoides como la phytuberina, que tienen efectos antifúngicos, antiinflamatorios y emolientes; enzimas como la amilasa, sucrasa y oxidasa; y vitaminas como las B₁, B₂ y C. Igualmente, es rico en compuestos polifenólicos, almidón y sales de potasio (Berdonces, 2004; Leri *et al.*, 2011; Navarre y Pavek, 2014).

De manera similar, la papa hervida y caliente es excelente fomento calorífico, muy útil en articulaciones dolorosas y en problemas reumáticos y gotosos. Por sus propiedades astringentes, las rodajas del tubérculo recién cortadas se ponen sobre los ojos para ayudar a curar los orzuelos. La cáscara o piel, se usa en decocción para aliviar la hipertensión arterial, la úlcera péptica y el espasmo intestinal; en cataplasmas, se utiliza para acelerar los procesos de cicatrización, alivio de quemaduras y escaladuras; y en baños de asiento, para el tratamiento de las hemorroides (Berdonces, 2004).

1.6.1 Variedad sabanera de la especie *S. tuberosum*

La variedad nativa tetraploide de la especie *S. tuberosum* conocida como “Sabanera” o “Tuquerreña” (Figura 1-10), es una de las más de 4000 variedades de esta especie. Pertenece a la ssp. *andigena* y es originaria del municipio de Túquerres en el Departamento de Nariño, aunque es cosechada principalmente en el Departamento de Boyacá, Colombia (Nústez, 2011; Navarre y Pavek, 2014).

Esta planta presenta buena adaptabilidad en zonas altas (> 2800 m s. n. m.) y su ciclo de cultivo es de 210 días con un potencial de rendimiento en condiciones óptimas de cultivo de 20 t/ha. Además, ostenta un amplio periodo poscosecha de entre 3 y 3,5 meses (15 °C y 75 % H.R.). Dentro de sus características morfológicas relevantes se encuentra su follaje verde oscuro y tallo pigmentado con porte de planta alto; el tubérculo, de forma redonda con un color predominante púrpura característico y como color secundario el crema, con ojos de profundidad media y el interior de textura compacta y color crema, alto contenido de materia seca (25 % aproximadamente) y excelente calidad culinaria (Nústez, 2011).

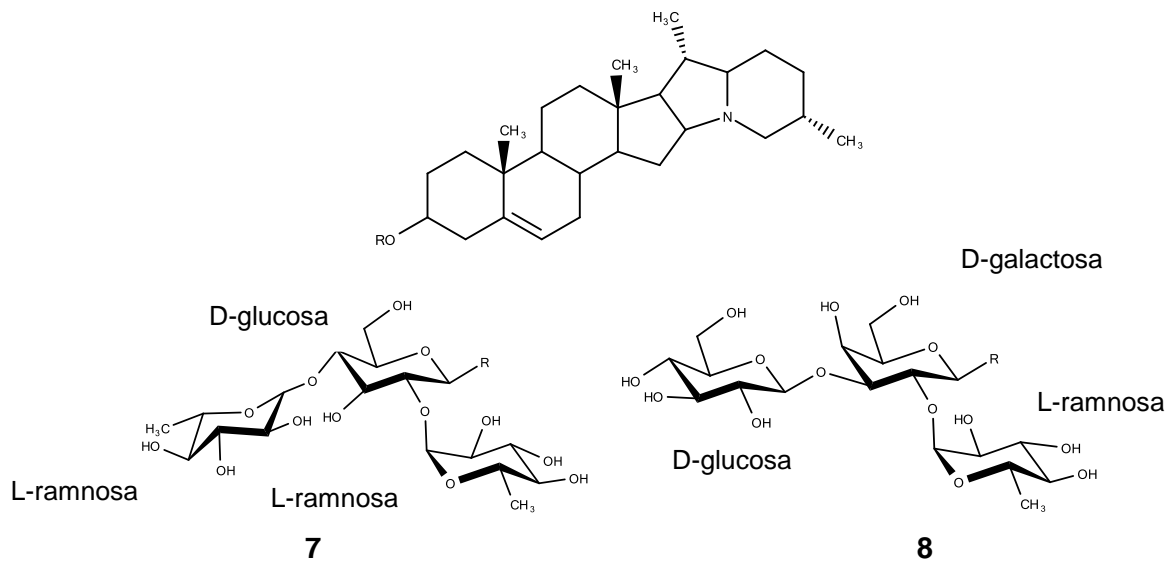
Figura 1-10: Tubérculos de *S. tuberosum* variedad Sabanera



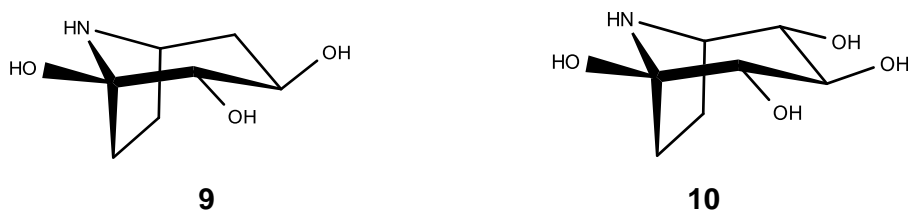
1.6.2 Estudios fitoquímicos de la especie *S. tuberosum*

La especie *Solanum tuberosum* cuenta con una gran cantidad de estudios fitoquímicos y de actividad biológica, principalmente en el tubérculo debido a su importancia alimenticia. Unos de los metabolitos de mayor interés encontrados en la peridermis son los glicoalcaloides como la α -chaconina **7** y la α -solanina **8**, asociados a funciones de

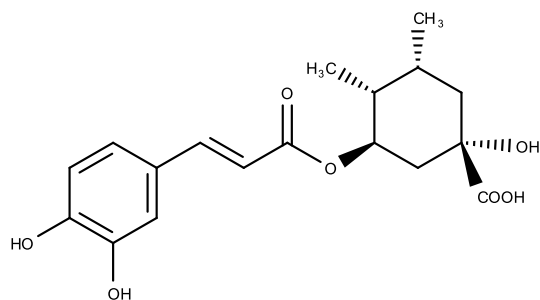
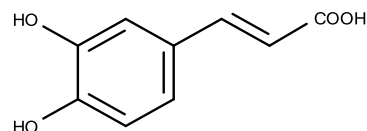
protección por su elevada toxicidad contra insectos y microorganismos (Leri *et al.*, 2011; Buitrago, 2011).



También han sido reportados alcaloides tropánicos como las calisteginas A3 **9** y B2 **10**, interesantes por su potencial uso para el tratamiento contra el cáncer, diabetes e infecciones causadas por virus y bacterias (Friedman y Levin, 2009).



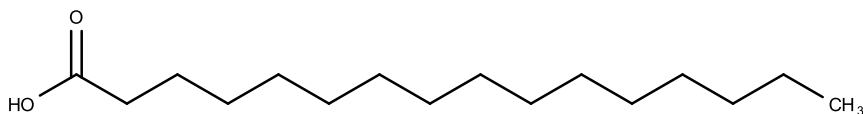
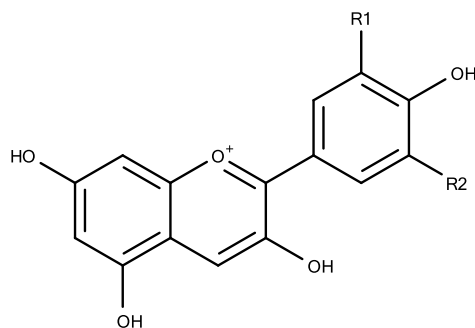
Los compuestos de tipo C_6C_3 como el ácido clorogénico **11** y el ácido caféico **12**, importantes por su actividad antioxidante, antiglicémica, antibacteriana y antilipídica; son constituyentes principales en las zonas periféricas del tubérculo, además, están muy relacionados con las propiedades organolépticas y de pardeamiento del tubérculo al ser cortado o procesado (Friedman, 1997; Leri *et al.*, 2011).

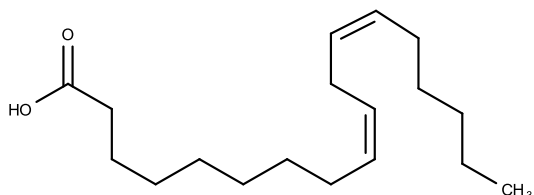
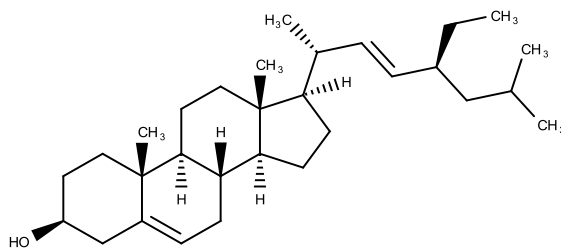
**11****12**

Los pigmentos o antocianinas encontradas en la cáscara de papa como la pelargonidina **13**, cyanidina **14**, peonidina **15**, delphinidina **16**, petunidina **17**, malvidina **18** y sus derivados glicosidados, son responsables de los cambios en la coloración de la piel del tubérculo y dependen en gran medida de condiciones como pH, luz y temperatura. Adicionalmente, contribuyen a la clasificación taxonómica y son protectores contra patógenos y los rayos UV gracias a su potencial antioxidante (Friedman y Levin, 2009; Leri *et al.*, 2011).

Finalmente, compuestos como los ácidos grasos y esteroides también han sido encontrados en el tubérculo, como el ácido palmítico **19**, el ácido linoleico **20** y el estigmasterol **21**. Éstas moléculas, cumplen funciones de gran importancia al participar en procesos de biosíntesis de lípidos más complejos y tener actividad antioxidante (Buitrago, 2011).

		R1	R2
13	Pelargonidina	H	H
14	Cyanidina	OH	H
15	Peonidina	OCH ₃	H
16	Delfinidina	OH	OH
17	Petunidina	OCH ₃	OH
18	Malvidina	OCH ₃	OCH ₃

**19**

**20****21**

2. Metodología

2.1 Procedimientos generales

Los ensayos de actividad biológica fueron realizados en el Laboratorio del grupo de investigación en Farmacología Molecular “*FARMOL*” del Departamento de Farmacia de la Universidad Nacional de Colombia.

La actividad antihipertensiva se llevó a cabo por el método de rata desmedulada o “*pithed*”. Las ratas Wistar fueron suministradas por el Bioterio del Departamento de Farmacia de la Universidad Nacional de Colombia y con aprobación del *Comité de Ética de la Facultad de Ciencias* (UNCSB) bajo el proyecto titulado “*Evaluación de los efectos cardiovasculares del extracto y los compuestos de S. tuberosum en rata desmedulada*”. Ésta técnica *in vivo*, es muy apropiada para el estudio de sustancias con potencial farmacológico con efectos cardiovasculares, ya que permite observar los cambios de presión arterial y frecuencia cardíaca cuando entran en juego variables metabólicas que afectan la efectividad y biodisponibilidad de los fármacos (Gómez y Guerrero, 2009).

Para el estudio de agregación plaquetaria *in vitro*, se utilizó la técnica espectrofotométrica descrita por Buitrago (Buitrago *et al.*, 2007; Buitrago, 2011; Espitia, 2014) y basada en la técnica de Born, en la que se estima la cinética de la agregación de las plaquetas por medio de turbidimetría (Born, 1962). En los ensayos, se emplea un fotómetro modificado o agregómetro, el cual registra los cambios en la transmisión de luz ocurridos en el plasma sanguíneo al ser estimulado con un inductor de la agregación plaquetaria y simulando condiciones fisiológicas. El incremento en la transmisión de la luz se debe al aclaramiento de la solución por la formación de agregados plaquetarios macroscópicos que se van depositando en el fondo de la celda de vidrio (Córdoba *et al.*, 2011).

Las separaciones cromatográficas se realizaron empleando técnicas como la cromatografía en columna por efecto de la gravedad (CC), por aplicación de presión o cromatografía flash (CF), cromatografía líquida al vacío (CLV) y cromatografía en capa delgada preparativa (CCDP), seleccionadas de acuerdo a la cantidad de muestra, los tipos de metabolitos presentes y de estudios cromatográficos en capa delgada (CCD) que se realizaron con diferentes sistemas de elución.

La fase estacionaria empleada para la cromatografía tradicional CC fue sílica gel 60 Merck (70-230 Mesh) y Sephadex™ LH-20, para la CF y CLV sílica gel 60 Merck (230-400 Mesh). Las separaciones por CCDP se realizaron en placas de sílica gel 60 HF₂₅₄ Merck de 1 mm de espesor y los estudios de CCD se realizaron en cromatoplasmas de sílica gel 60 HF₂₅₄ Macherey-Nagel, utilizando como reveladores vapores de yodo, luz UV (254 y 365 nm), vainillina en H₂SO₄ (1g de vainillina en 100 etanol con 5% de H₂SO₄), anisaldehído en H₂SO₄ (1mL de anisaldehído en 100 etanol con 5% de H₂SO₄) y reactivo de Dragendorff (Merck, 1972). Los disolventes utilizados fueron de grado técnico (destilados antes de su uso) y analíticos.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de ¹H y ¹³C, así como los experimentos bidimensionales como DEPT 135, COSY, HMBC y HMQC fueron tomados en un espectrómetro Bruker Avance 400, operado a 400 MHz para ¹H y a 100 MHz para ¹³C. Como disolventes y patrones internos se utilizaron cloroformo deuterado (CDCl₃) y metanol deuterado (CD₃OD) a temperatura ambiente. Los desplazamientos químicos (δ) están expresados en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento (J) en hercios (Hz). La multiplicidad de las señales están asignadas como: singlete (s), doblete (d), triplete (t), cuarteto (c), quinteto (q), multiplete (m), doble doblete (dd), doble triplete (dt), singlete ancho (sa), entre otros.

El análisis de masas de alta resolución (HR-ESI-MS) fue realizado en un cromatógrafo líquido acoplado a espectrometría de masas con ionización electrospray (ESI), modelos 1260 Infinity LC system y Q-TOF 6520 mass spectrometer de Agilent Technologies, provisto de una columna Waters Atlantis C-18 de 100 mm x 2.1 mm i.d. x 5 μm, en modo positivo, voltaje del fragmentador de 175 V, rango de adquisición de 50-1000 m/z, temperatura del gas (N₂) 300 °C y flujo de 10 L/min, presión del nebulizador 25 psi y voltaje

del detector 3000 V. Se empleó la fase móvil (agua - ácido fórmico 0,1% (A) y metanol (B), en gradiente (9,5(A):0,5(B) hasta 10(B)).

2.2 Recolección del material vegetal

Los tubérculos de la especie *S. tuberosum* variedad Sabanera fueron adquiridos en el mercado popular de la ciudad de Bogotá D.C. (Plaza de Paloquemao). Adicionalmente, un espécimen fue recolectado por Juan Carlos León en la vereda El Hato, ubicada en la localidad de Usme de la ciudad de Bogotá D.C., Colombia, en las coordenadas (4° 23' 10" N, 74° 9' 42" O). La especie fue determinada por el biólogo Carlos Alberto Parra y un espécimen reposa en el Herbario Nacional Colombiano con el número COL-596916.

2.3 Obtención del extracto etanólico

Los tubérculos sanos y frescos (100 Kg) fueron lavados, secados y pelados cuidadosamente a una profundidad máxima aproximada de 1 mm para obtener la peridermis. Una vez seca y molida (590 g), fue extraída a temperatura ambiente por maceración con EtOH al 96 %. Finalmente, el disolvente fue retirado por destilación a presión reducida en rotavapor (40 °C), obteniéndose 34 g del extracto crudo (EPS).

2.4 Estudio fitoquímico del extracto etanólico de la peridermis de *S. tuberosum*

El extracto etanólico seco denominado EPS (32 g), fue macerado en sílica gel y fraccionado por CLV utilizando como fase móvil el sistema de polaridad creciente (TOL, TOL:AcOEt 9:1, 8:2, 7:3, 5:5 y AcOEt). En total, se recogieron 55 fracciones reunidas en 10 fracciones finales de acuerdo a un estudio (CCD) y denominadas EPS-1 a EPS-10.

Las fracciones EPS-1, EPS-2 y EPS-3 de tipo apolar, se analizaron por CG-EM en un cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890B acoplado a un detector de masas Agilent 5977A, con una relación de Split 30:1 (250°C), empleando una columna capilar HP-FFAP de 50m x 200µm d.i. x 0,3µm d.f., con las condiciones: Temperatura inicial: 50 °C (0

min), 10 °C/min hasta 220 °C (10 min), 5 °C/min hasta 250 °C (20min); Helio como gas de arrastre con un flujo constante de 1mL/min e inyectando 1µL de muestra. La determinación de los metabolitos se realizó por comparación de los espectros de masas obtenidos y los espectros reportados en las bases de datos: Wiley9 y NIST08.

La fracción EPS-2 (503 mg), fue sometida a CF eluyendo con el sistema Hex:AcOEt (95:5) obteniéndose 10 fracciones finales de acuerdo a un estudio por CCD. De allí, las fracciones 4 a 8 (120 mg), fueron reunidas y fraccionadas por CF utilizando el sistema de elución Hex:AcOEt (9:1) reuniéndose 5 fracciones, en donde la 4 y 5 (79 mg), fueron reunidas y fraccionadas por CF utilizando CHCl₃ como eluyente, al final se obtuvieron 4 fracciones, de las cuales las fracciones 1 y 2 (45 mg) fueron reunidas y sometidas a CC eluyendo con Hex:AcOEt (8:2), obteniéndose 2 fracciones finales. Finalmente, la fracción 1 fue éluida por CCDP utilizando la fase móvil Hex:AcOEt (9:1), logrando la purificación del compuesto SP-1 (12 mg).

Las fracciones EPS-3 (773 mg) y EPS-4 (326 mg) fueron reunidas y sometidas a CF eluyendo con Hex:AcOEt (9:1) obteniéndose 9 fracciones de acuerdo a un estudio por CCD. De allí, la fracción 4 y 5 (423 mg), fueron reunidas y fraccionadas por CF utilizando el sistema de elución Hex:DMK:CH₃COOH (95:4:1) reuniéndose 3 fracciones, donde la fracción 1 (76 mg), fue purificada por CC utilizando el sistema de elución Hex:DMK (95:5), logrando el compuesto SP-3 (20 mg). Por otro lado, una porción (40 mg) de la fracción 3 (254 mg), fue purificada por CCDP utilizando la fase móvil Hex:DMK:CH₃COOH (95:4:1) para obtener el compuesto SP-4 (33 mg).

La fracción EPS-5 (2.061 mg), EPS-6 (207 mg) y EPS-7 (1.487 mg) fue sometida a CF eluyendo con DCM:MeOH (98:2) obteniéndose 6 fracciones finales de acuerdo a un estudio por CCD. De allí, la fracción 4 (215 mg), fue fraccionada por CF eluyendo con DCM:MeOH (95:5), de allí, se obtuvieron 3 fracciones finales de acuerdo a un estudio por CCD y de las cuales la fracción 2 corresponde al compuesto SP-2 (140 mg).

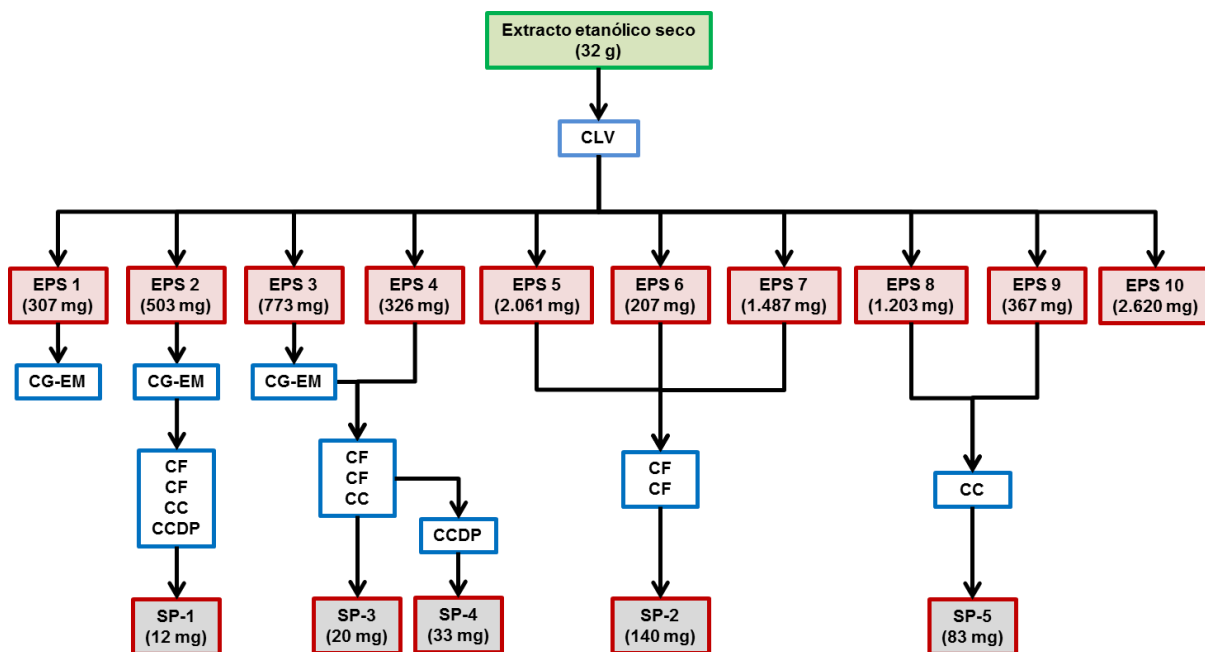
Finalmente, las fracciones EPS-8 (1.203 mg) y EPS-9 (280 mg) fue fraccionada por cromatografía en columna (CC) utilizando Sephadex™ LH-20 como fase estacionaria y el sistema Hex:CHCl₃:MeOH en proporción (2:2:1) como fase móvil, de allí, se obtuvieron 28

fracciones que fueron reunidas en 5 fracciones finales, de las cuales, la fracción 2 corresponde al compuesto SP-5 (83 mg).

En este trabajo de investigación, se elucidaron las estructuras de los compuestos SP-1 y SP-2 de acuerdo a los resultados de los ensayos de actividad biológica. Las estructuras de los compuestos SP-3, SP-4 y SP-5 se encuentran en proceso de elucidación estructural.

En la Figura 2-1, se resume el proceso de fraccionamiento y purificación de los metabolitos secundarios obtenidos de la peridermis del tubérculo de *S. tuberosum* variedad sabanera.

Figura 2-1: Diagrama general del estudio fitoquímico del extracto etanólico de la peridermis de *S. tuberosum* variedad sabanera.



2.5 Actividad antihipertensiva

Para el ensayo se utilizaron ratas Wistar hembra con pesos entre 230 - 235 g, mantenidas *ad libitum* en ciclos de luz-oscuridad de 12 horas, temperatura controlada (21 °C), alimento y agua a libre disposición.

Los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico (45 mg/Kg, I.P.) (*Sigma-aldrich*®), se canuló la tráquea con un catéter calibre (G16) y se conectó a una máquina ventilatoria (*Harvard*®, Ref 683) suministrando un volumen aproximado de 2 mL de aire y una frecuencia de 40 ciclos por minuto. Posteriormente, utilizando catéteres, se realizó la canulación de la arteria carótida izquierda para la medición de la presión arterial directa y de la vena femoral izquierda para la administración de heparina (1mL/Kg, I.V.) (*Sigma-aldrich*®) y noradrenalina (0,25 µg/Kg, I.V.) (*Sigma-aldrich*®). La desmedulación se llevó a cabo introduciendo una varilla de acero inoxidable de 1,5 mm de diámetro desde el canto interno de la órbita, atravesando el canal medular por el foramen magno hasta alcanzar el primer segmento sacro S1.

Los valores de presión arterial media se obtuvieron de la fórmula: presión diastólica + 1/3 de la presión de pulso (presión sistólica menos la presión diastólica). La presión arterial fue monitoreada utilizando un transductor (*Coulbourn Instruments*, Ref. S72-25) y el módulo de presión arterial proyectada como ondas en un computador a través del programa de adquisición de datos (*Datatrax2*®). Una vez realizado el procedimiento, se esperó por un espacio de tiempo aproximado de diez minutos, mientras las señales de presión arterial y frecuencia cardíaca se estabilizaron (presión arterial basal). Acto seguido, se inició la primera serie de experimentos administrando a cada animal el agente hipertensor (noradrenalina) con la cual fue posible visualizar un pico máximo y mínimo de presión arterial (presión arterial máxima). Después de visualizar la regulación de la presión nuevamente, se administraron como tratamientos: control (vehículo: propilenglicol) (*Merck*®) y los tratamientos en dosis crecientes de (0,5; 1,0; y 5,0 mg/Kg, I.P.), finalmente se observó el efecto de los mismos sobre la presión arterial máxima al aplicar nuevamente el agente hipertensor (presión arterial postratamiento).

En la segunda serie de experimentos, se evaluó por triplicado el tratamiento que tuvo mayor efecto hipotensor en la primera serie de experimentos, para este caso, después del tratamiento se administró dos veces la misma dosis de noradrenalina (con un intervalo de 10 minutos cada una), con el fin de aumentar la concentración plasmática del agente hipertensor y así determinar si el tratamiento además de generar efecto hipotensor, inhibía el aumento de presión arterial.

Los valores de presión arterial media se expresaron como el promedio \pm el error estándar de la medida (ESM) de $n=3$.

El análisis de los datos se realizó con el paquete estadístico *GraphPad Prism*[®] versión 7.03. Para la primera fase, se realizó un análisis de varianza ANOVA de dos vías asumiendo un valor $P<0.05$ y se recurrió a un test no paramétrico como la *prueba de Tuckey*, para establecer diferencias significativas.

2.6 Actividad antiagregante plaquetaria

Las muestras de sangre fueron obtenidas de voluntarios sanos entre 18 y 45 años previo consentimiento informado (Anexo A), que manifestaron no haber recibido ningún tipo de medicamento durante las dos semanas previas a la recolección de la muestra. Ésta última, fue extraída por venopunción directa de la vena del pliegue del codo tomando aproximadamente 18 mL de sangre recolectada en tubos al vacío con citrato sódico al 3,2 % en proporción 9:1.

El plasma rico en plaquetas (PRP) se obtuvo por centrifugación de la muestra durante 10 minutos a 1500 rpm. Posteriormente, el plasma pobre en plaquetas (PPP) utilizado para la calibración del agregómetro al 100 % de transmitancia y 0 % de absorbancia, fue obtenido a través de una segunda centrifugación a 3500 rpm durante 10 minutos. Antes de continuar con los ensayos, el PRP se dejó en reposo por 1 hora.

En las celdas de vidrio del agregómetro (*Packs-4; Helena laboratorios*[®]) que se insertan en los canales de lectura, se dispensaron 220 μ L del PRP y 5 μ L del tratamiento (extracto,

fracciones o compuestos), los cuales se dejaron en incubación durante 30 minutos, posteriormente se adicionaron 25 μL del agonista de agregación plaquetaria y se registró su comportamiento durante 10 minutos a 697 nm, 37 °C y 600 rpm. Las concentraciones de los agonistas de agregación son las mínimas con las que una persona agrega normalmente: ADP (20 μM), Epinefrina (300 μM), Colágeno (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y Ácido araquidónico (500 $\mu\text{g}/\text{mL}$), (*Helena Laboratorios*[®]). Como control se utilizó la respuesta del PRP incubado con el vehículo dimetilsulfóxido DMSO (*Sigma-aldrich*[®]) al 0.4 % y como patrón se utilizó ácido acetilsalicílico ASA (*Sigma-aldrich*[®]) a una concentración (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$).

En la primera fase del estudio, se realizó un tamizaje con los tratamientos a una concentración de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Una vez identificados los tratamientos activos, éstos se sometieron a una segunda fase empleando concentraciones entre 30 y 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para construir las curvas concentración – porcentaje de inhibición frente a los mismos inductores de agregación plaquetaria.

La agregación plaquetaria se expresa como el porcentaje de cambio máximo posible en la transmisión de la luz durante el tiempo del ensayo después de adicionar el agonista de agregación plaquetaria. Por lo tanto, el efecto antiagregante plaquetario de los tratamientos se expresaron como el promedio \pm el error estándar de la medida (ESM) de $n=3$, cada uno de los valores n es el promedio de ensayos por duplicado.

El análisis de los datos se realizó con el paquete estadístico *GraphPad Prism*[®] versión 7.03. Para la primera fase, se realizó un análisis de varianza ANOVA de dos vías asumiendo un valor $P<0.05$ y se recurrió a un test no paramétrico como la *prueba de Tuckey*, para establecer diferencias significativas. En la segunda fase, las concentraciones inhibitorias 50 (CI_{50} : concentración que inhibe el 50% de la agregación plaquetaria máxima) con sus respectivos intervalos de confianza al 95 %, se obtuvieron del análisis de regresión sigmoideal de la curva dosis-respuesta.

3. Resultados y discusión

El extracto etanólico obtenido a partir de la peridermis del tubérculo de la especie *S. tuberosum* variedad sabanera, fue fraccionado (Sección 2.4) por CLV utilizando un sistema de disolventes de polaridad creciente, obteniendo 10 fracciones (EPS-1 a EPS-10).

Teniendo en cuenta estudios realizados por Buitrago (Buitrago, 2011), donde se reportan efectos cardiovasculares de una fracción apolar compuesta principalmente por ésteres de ácidos grasos, y considerando la apariencia física y el perfil por CCD de las fracciones obtenidas en este estudio. Las fracciones EPS-1, EPS- 2 y EPS-3 fueron sometidas a una caracterización preliminar por CG-EM utilizando las condiciones descritas en el numeral 2.4, para verificar la presencia de ésteres de ácido graso.

En la Tabla 3-1, se muestran los tiempos de retención (T_R) y porcentaje de área (A %) de los ésteres de ácido graso determinados en las fracciones EPS-1 y EPS-2, de las cuales los TIC correspondientes se observan en el Anexo B. En el caso de la fracción EPS-3, no se detectaron ésteres de ácido graso dentro de su composición (N.D).

Tabla 3-1: Caracterización preliminar de las fracciones apolares por GC-EM.

Fracciones	T_R (min)	% A	Determinación
EPS-1	21,677	34,4	Hexadecanoato de etilo
	22,030	10,23	Heptadecanoato de etilo
	24,244	10,26	Octadecanoato de etilo
EPS-2	21,668	38,43	Hexadecanoato de etilo
	24,239	10,72	Octadecanoato de etilo
	25,397	11,10	Linoleato de etilo
EPS-3	N.D	N.D	N.D

De acuerdo a reportes de la literatura, los ésteres de ácidos grasos determinados en las fracciones EPS-1, EPS-2, se encuentran normalmente en la composición del tubérculo de *S. tuberosum* (Fawzy y Farouk, 2016). Además, están acordes con el estudio fitoquímico realizado por Buitrago en el que se identificaron el Hexadecanoato de etilo (Palmitato de etilo) y el Octadecanoato de etilo (Estearato de etilo) como los esteres más representativos de la fracción apolar activa con una abundancia del 52,7 % y 17,2 % respectivamente (Buitrago, 2011).

Verificada la presencia de los ésteres de ácido graso en las fracciones EPS-1 y EPS-2, y acogiendo la sugerencia de evaluar los posibles efectos cardiovasculares de este tipo de fracciones y metabolitos aislados de la peridermis del tubérculo. Se evaluó el efecto hipotensor en rata desmedulada de estas fracciones como se describe en el numeral 3.1.

3.1 Ensayos de actividad antihipertensiva

Las fracciones EPS-1, EPS-2 y EPS-3 fueron sometidas al ensayo de actividad antihipertensiva en rata desmedulada de acuerdo al procedimiento descrito en la sección 2.5.

En la primera fase del ensayo, se evaluaron por triplicado las fracciones a tres concentraciones distintas (0,5; 1,0; y 5,0 mg/Kg, I.P.), como agente hipertensor se utilizó noradrenalina (0,25 µg/Kg, I.V.) y como control propilenglicol, I.P. Los valores de presión arterial media obtenidos se observan en la Tabla 3-2, donde se reportan los valores de presión arterial basal (PAB); presión arterial máxima (PAM), que se registra como el máximo valor de presión arterial basal en la rata al ser estimulada con el agente hipertensor; y la presión arterial postratamiento (PAP), que se registra una vez se estabiliza la presión arterial basal del animal después de administrar el tratamiento a diferentes concentraciones.

Tabla 3-2: Efecto hipotensor sobre la presión arterial de las fracciones EPS-1, EPS-2 y EPS-3 en rata desmedulada.

Tratamiento	Dosis (mg/Kg)	Presión arterial (mm Hg)		
		PAB	PAM	PAP
Control	-	105 ± 2,3	123 ± 0,9	123 ± 1,2
EPS 1	0,5	100 ± 3,9	128 ± 5,9	123 ± 5,8
EPS 2		98 ± 2,3	117 ± 3,5	105 ± 2,6
EPS 3		101 ± 1,8	118 ± 4,8	119 ± 2,6
EPS 1	1,0	103 ± 1,8	127 ± 0,9	126 ± 4,3
EPS 2		102 ± 3,1	118 ± 5,4	101 ± 5,2
EPS 3		99 ± 4,4	113 ± 1,5	115 ± 3,4
EPS 1	5,0	97 ± 2,9	115 ± 4,3	115 ± 2,7
EPS 2		101 ± 3,5	117 ± 2,1	97 ± 1,8
EPS 3		104 ± 4,9	118 ± 4,2	116 ± 1,5

Cada punto representa el promedio +/- ESM, de $n=3$.

En las Figuras 3-1 y 3-2, y de acuerdo al análisis estadístico se observa que las fracciones EPS-1 y EPS-3 no ejercen efectos hipotensores significativos en la presión arterial de las ratas a ninguna de las concentraciones ensayadas, y se comportan de manera similar al control.

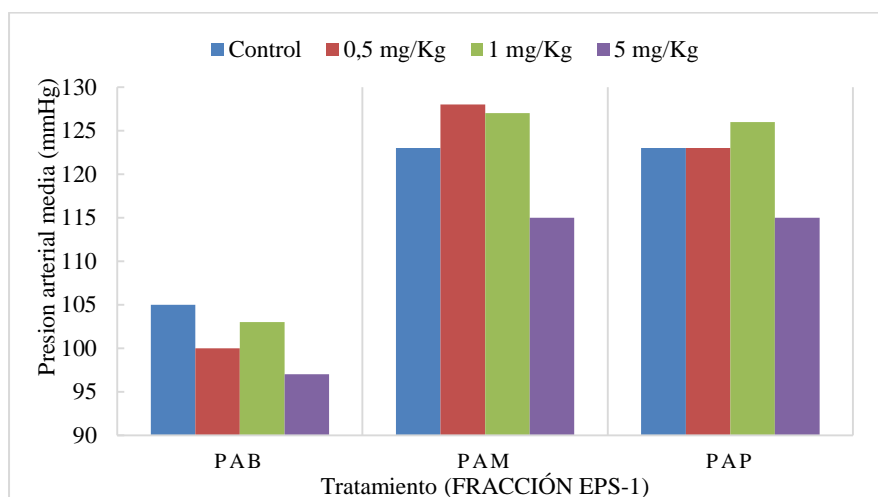
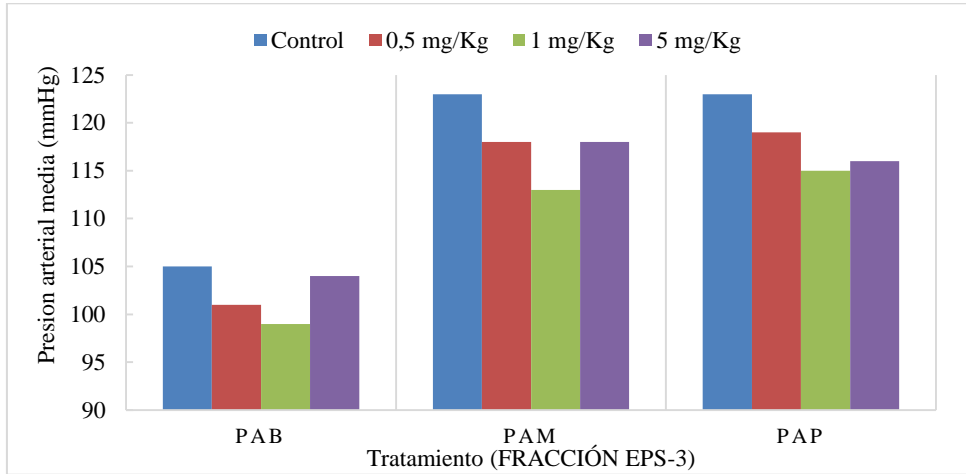
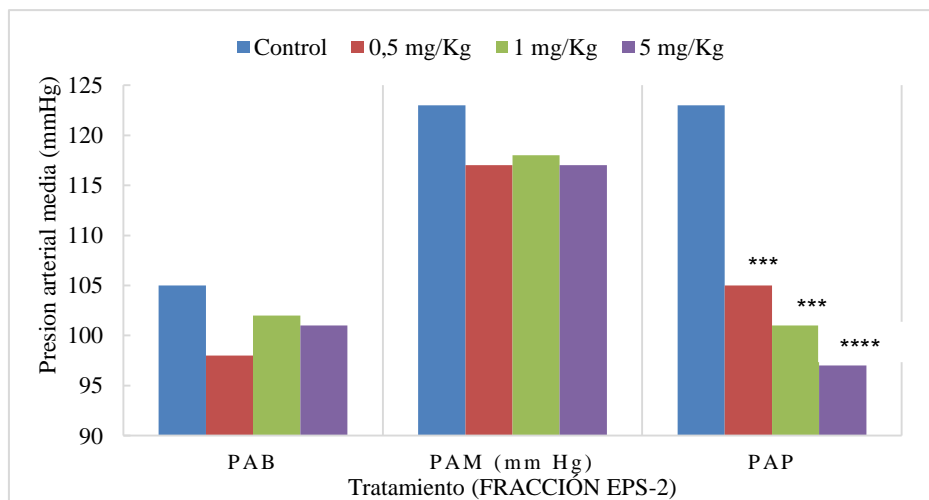
Figura 3-1: Efecto hipotensor sobre la presión arterial en rata desmedulada de la fracción EPS-1 a diferentes concentraciones.

Figura 3-2: Efecto hipotensor sobre la presión arterial en rata desmedulada de la fracción EPS-3 a diferentes concentraciones.

Por el contrario, en la Figura 3-3 se observa que la fracción EPS-2 ejerce efectos hipotensores significativos respecto al control sobre la presión arterial de ratas estimuladas con noradrenalina. Además, el efecto hipotensor es proporcional a la concentración de la fracción, como se ve claramente en la tendencia de las barras que grafican los valores de presión arterial postratamiento (PAP), obteniéndose una mayor disminución de la presión arterial a una concentración de 5,0 mg/Kg, I.P.

Figura 3-3: Efecto hipotensor sobre la presión arterial en rata desmedulada de la fracción EPS-2 a diferentes concentraciones.

, $P < 0.01$; *, $P < 0.001$. Tratamientos con diferencia significativa respecto al control.

Teniendo en cuenta los resultados anteriores, se realizó una segunda fase de experimentos con la fracción EPS-2 a la concentración con la que se obtuvo el mayor efecto hipotensor (5,0 mg/Kg, I.P.). En esta ocasión, se realizó la administración acumulativa de noradrenalina postratamiento, con el fin de aumentar la concentración plasmática del agente hipertensor y así determinar si la fracción EPS-2 además de generar efecto hipotensor, inhibe el aumento de presión arterial.

En la Tabla 3-3, se observan los valores de presión arterial basal (PAB); presión arterial máxima (PAM1), que se registra como el máximo valor de presión arterial media en la rata al ser estimulada con el agente hipertensor o noradrenaina (0,25 µg/Kg, I.V.); la presión arterial postratamiento (PAP), que se registra una vez se estabiliza la presión arterial media del animal después de administrar el tratamiento o fracción EPS-2 (5,0 mg/Kg, I.P.); la presión arterial máxima 2 (PAM2), correspondiente a los valores de presión arterial media después de la segunda administración de noradrenalina y la presión arterial máxima 3 (PAM3), que pertenecen a la tercera administración del agente hipertensor.

Tabla 3-3: Efecto hipotensor sobre la presión arterial en rata desmedulada de la fracción EPS-2 con administración repetida de noradrenalina.

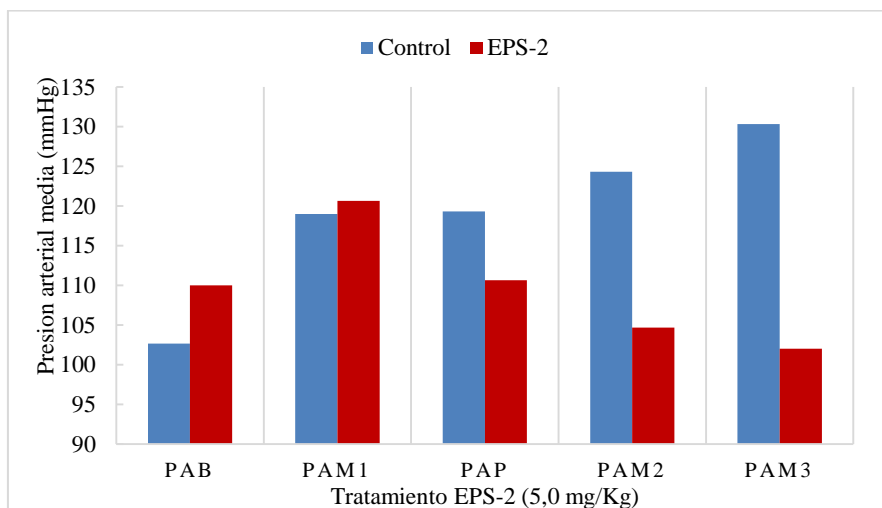
Tratamiento	PAB	PAM1	PAP	PAM2	PAM3
Control	103 ± 1,2	119 ± 1,7	119 ± 2,4	124 ± 1,9	130 ± 1,2
EPS-2	110 ± 3,6	121 ± 3,3	111 ± 2,2	105 ± 1,7	102 ± 1,0

Cada punto representa el promedio +/- ESM, de $n=3$.

Al graficar estos valores (Figura 3-4), se observa el comportamiento de la presión arterial media en las ratas tratadas con el control, la cual aumenta con la acumulación plasmática de noradrenalina. Por el contrario, las ratas tratadas con la fracción EPS-2, evidencian una disminución sostenida de la presión arterial pese a la acumulación plasmática del agente hipertensor.

Comparando los resultados de otros estudios realizados en el extracto etanólico de la peridermis de la especie *S. tuberosum*, y los resultados de este ensayo, se puede corroborar una vez más, que la especie ejerce efectos hipotensores en la preparación de rata desmedulada.

Figura 3-4: Efecto hipotensor sobre la presión arterial en rata desmedulada de la fracción EPS-2 con administración repetida de noradrenalina.



En torno a los metabolitos activos, se ha demostrado que este efecto no se atribuye a los metabolitos mayoritarios del extracto etanólico de la peridermis, como los alcaloides (α -chaconina, α -solanina) o compuestos de tipo C_6C_3 como el ácido clorogénico (Gómez y Guerrero, 2009). En consecuencia, estudios más recientes sugieren efectos cardiovasculares de fracciones apolares compuestas en su mayoría por ésteres de ácido graso (Buitrago, 2011). Sin embargo, con los resultados obtenidos en esta investigación, se puede inferir que los ésteres de ácido graso presentes en las fracciones EPS-1 y EPS-2, no contribuyen de manera significativa a los efectos cardiovasculares de la especie.

Lo anterior, se plantea debido a que ambas fracciones a pesar de tener una composición similar de ésteres de ácido graso, difieren en el efecto que tienen sobre la presión arterial de rata desmedulada. En conclusión, el efecto hipotensor de la fracción EPS-2 no es atribuible a los ésteres de ácido graso, por lo tanto, se debe indagar el papel de otro tipo de compuestos presentes en menor proporción, o si bien, los efectos cardiovasculares de la especie provienen de interacciones sinérgicas.

3.2 Estudio fitoquímico de la fracción EPS-2

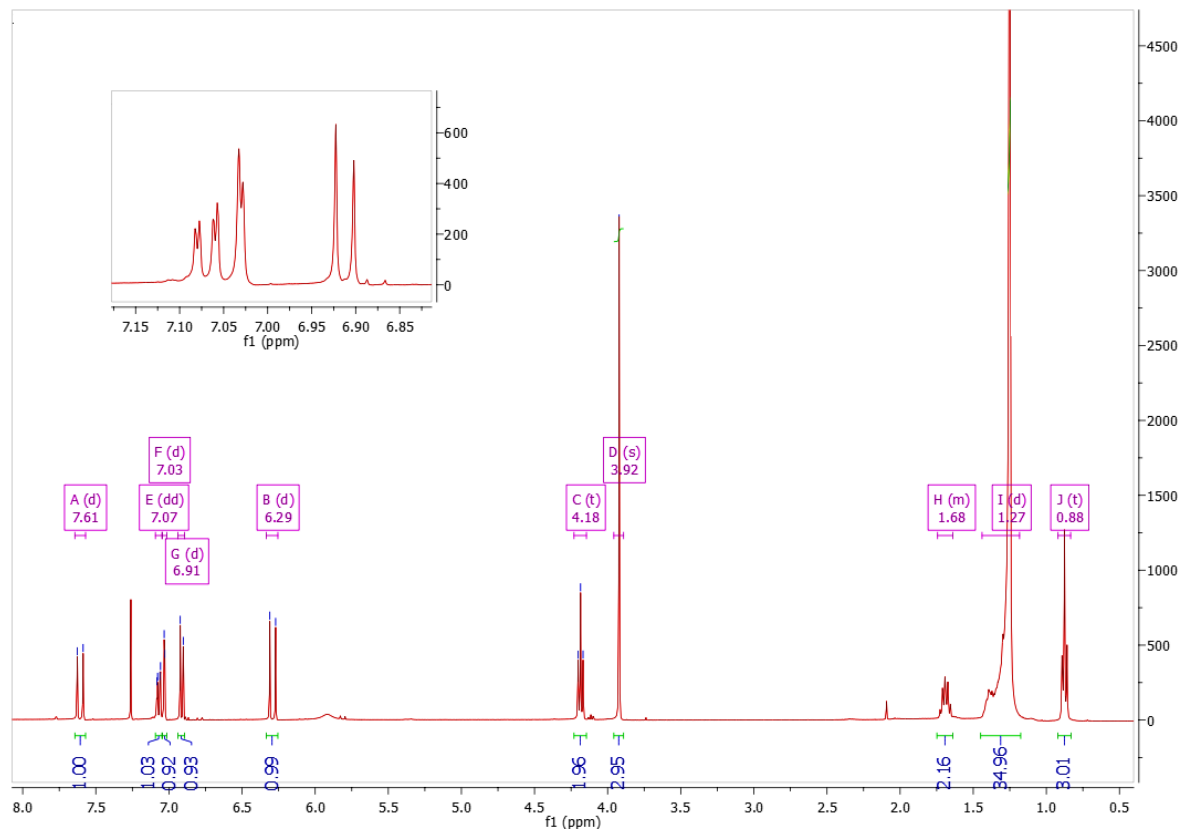
Teniendo en cuenta los resultados de la actividad antihipertensiva (Sección 3.1), La fracción EPS-2 (503 mg), fue fraccionada utilizando diferentes técnicas cromatográficas y sistemas de disolventes como se describió en la sección 2.4, obteniéndose el compuesto SP-1 (12 mg).

3.2.1 Elucidación estructural del compuesto SP-1

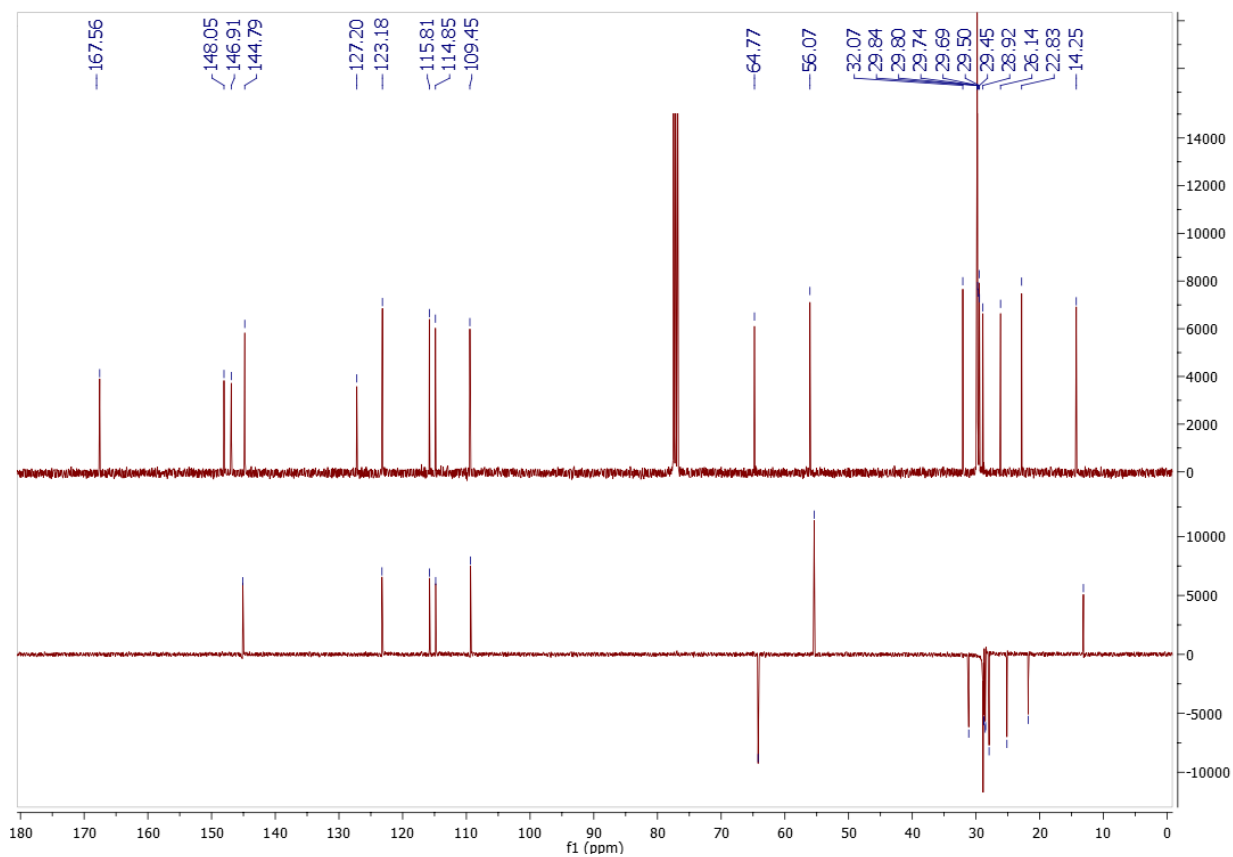
El compuesto SP-1, se obtuvo como un sólido amorfo de color amarillo claro, con punto de fusión 75-76 C° y de fórmula molecular C₂₄H₃₈O₄ (MW calc. 390,550) determinada por HRMS (m/z 391,5589 [M+H]⁺, calc 391,55794). Su pureza se verificó por CCD donde se observó como una sola mancha.

En el espectro de RMN ¹H (Figura 3-5), se observan señales que integran para 38 hidrógenos. De allí, se destacan el singlete δ_H 3.92 (3H, s) correspondiente a un metoxilo; las señales δ_H 7.03 (1H, d, J= 1.8 Hz), δ_H 6.91 (1H, d, J= 8.2 Hz) y δ_H 7.07 (1H, dd, J= 1.8, 8.2 Hz) correspondientes a hidrógenos de un anillo aromático trisustituído en posiciones *orto* y *meta*; las señales δ_H 7.61 (1H, d, J= 15.9 Hz) y δ_H 6.29 (1H, d, J= 15.9 Hz) correspondientes a dos hidrógenos vecinales de tipo vinílico en posición *trans*, y la señal δ_H 4.18 (2H, t, J= 6.7 Hz) correspondiente a dos protones de un metileno que por su desplazamiento se encuentra unido a un heteroátomo. Hacia campo alto, se observan señales en δ_H 1.68 (2H, m), δ_H 1.27 (24H, brs) y δ_H 0.88 (3H, t, J = 6.9 Hz), que por su apariencia, desplazamiento e integración corresponden a los metilenos y el metilo terminal de una cadena alifática.

Figura 3-5: Espectro de RMN ^1H del compuesto SP-1 (CDCl_3 , 400 MHz)

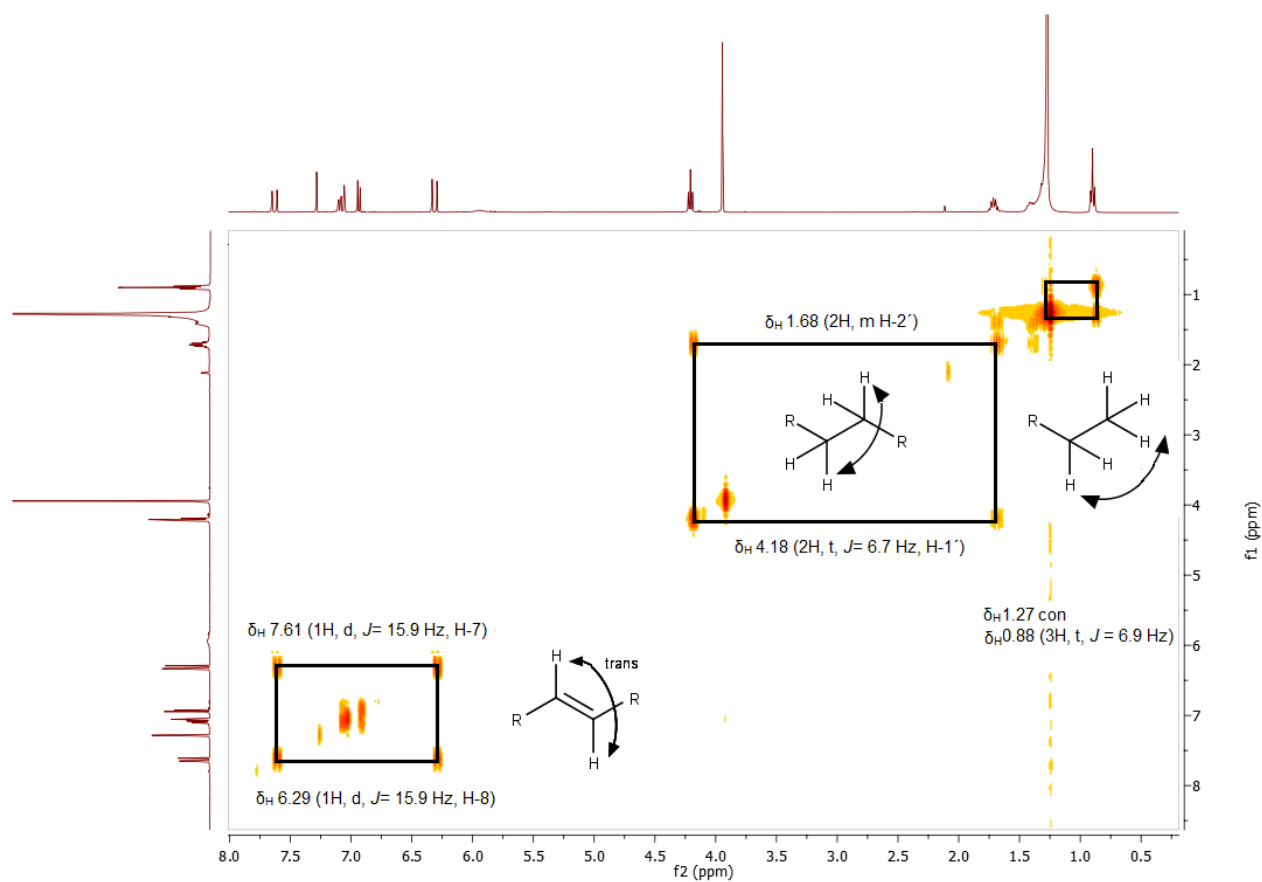


En los espectros de RMN ^{13}C y DEPT 135 (Figura 3-6), se observan señales para 24 carbonos. De estos, 12 señales entre 10 ppm y 35 ppm, confirman la presencia de una cadena alifática junto con su respectivo metilo terminal en δ_{C} 14.2; la señal δ_{C} 56.1, correspondiente a un metoxilo y la señal δ_{C} 64.7 a un metileno de la cadena alifática que por su desplazamiento indica que está unido a heteroátomo; también se observan cinco metinos de los cuales dos δ_{C} 115.8 y 144.8 corresponden a carbonos vinílicos y los tres restantes a carbonos aromáticos δ_{C} 109.4; 114.8 y 123.2. Adicionalmente, se diferencian de ambos espectros las señales de cuatro carbonos cuaternarios, de los cuales, uno corresponde a carbono aromáticos δ_{C} 127.2, dos a carbonos aromáticos unidos a oxígeno δ_{C} 148.1 y 146.9 y un carbono δ_{C} 167.6 que por su desplazamiento pertenece a un carbono carbonilo α - β insaturado.

Figura 3-6: Espectro de RMN ^{13}C y DEPT 135 del compuesto SP-1 (CDCl_3 , 100 MHz).

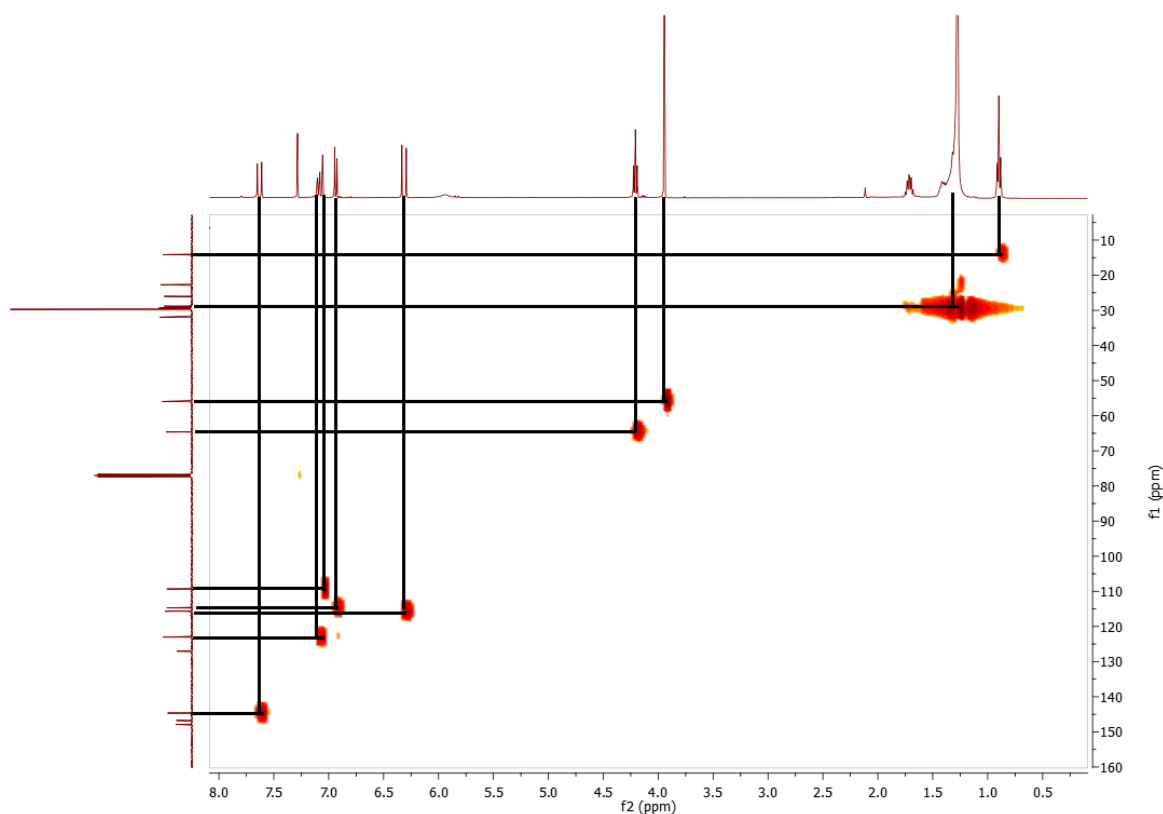
El espectro COSY (Figura 3-7), permitió establecer correlaciones entre núcleos de hidrógenos vecinales, de aquí podemos observar la correlación entre los hidrógenos vinílicos en posición *trans* δ_H 7.61 (1H, d, $J= 15.9$ Hz) y δ_H 6.29 (1H, d, $J= 15.9$ Hz); en la parte alifática de la molécula, la correlación entre los hidrógenos δ_H 1.68 (2H, m) y δ_H 4.18 (2H, t, $J= 6.7$ Hz), y los protones δ_H 1.27 (24H, brs) con δ_H 0.88 (3H, t, $J = 6.9$ Hz) correspondientes al metilo terminal de la cadena alifática.

Figura 3-7: Espectro COSY del compuesto SP-1 (CDCl₃, 400 MHz).



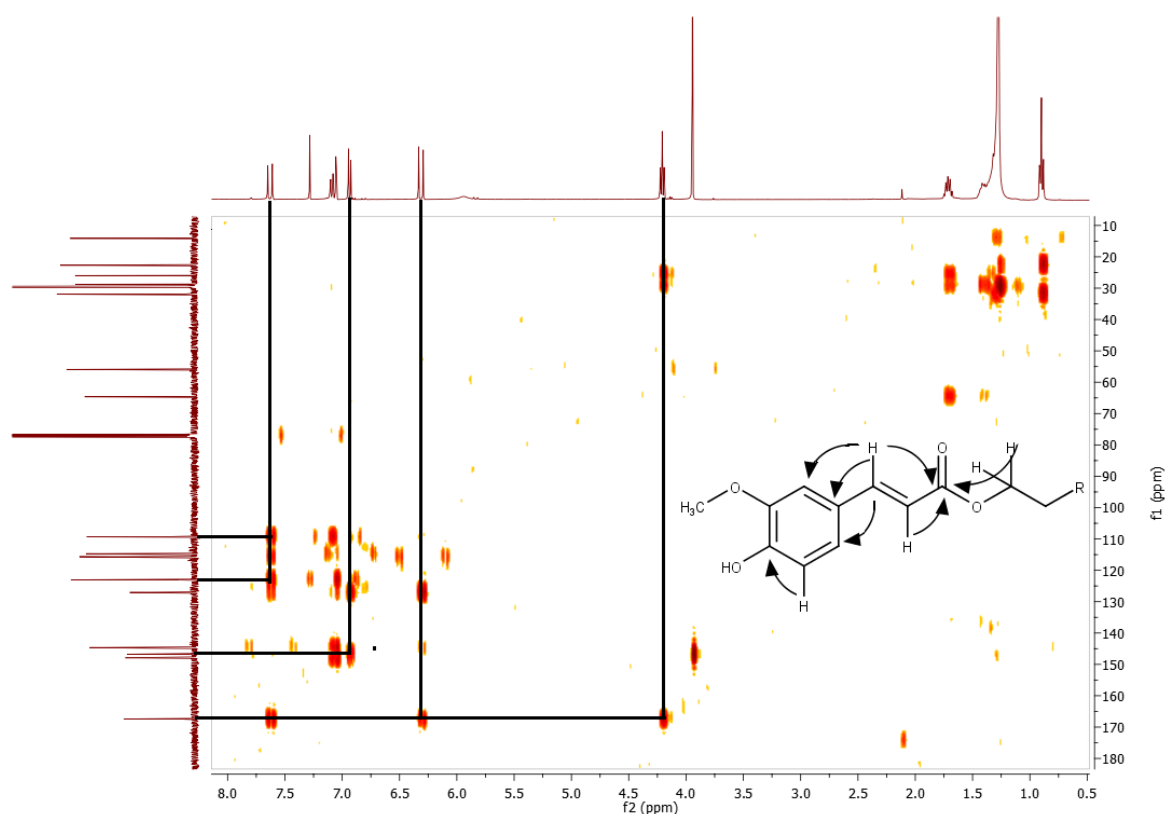
En el espectro HMQC (Figura 3-8), se observa la correlación entre un carbono y sus hidrógenos respectivos. Las principales correlaciones son los hidrógenos δ_{H} 0.88 (t, $J=6.9$ Hz, 3H) conectados al carbono δ_{C} 14.2 correspondientes al metilo terminal de la cadena alifática; los hidrógenos δ_{H} 0.88 (t, $J=6.9$ Hz, 3H) con el carbono δ_{C} 56.1 correspondientes al metoxilo; los hidrógenos δ_{H} 4.18 (t, $J=6.7$ Hz, 2H) con el carbono δ_{C} 64.7 correspondientes al metileno de la cadena alifática unido a heteroátomo; los protones vinílicos δ_{H} 7.61 (d, $J=15.9$ Hz, 1H) y 6.29 (d, $J=15.9$ Hz, 1H) con sus respectivos carbonos δ_{C} 144.8 y 115.8; y finalmente las correlaciones de los protones aromáticos δ_{H} 7.03 (d, $J=1.8$ Hz, 1H) con δ_{C} 109.4, δ_{H} 6.91 (d, $J=8.2$ Hz, 1H) con δ_{C} 114.8 y δ_{H} 7.07 (dd, $J=8.2, 1.9$ Hz, 1H) con δ_{C} 123.2.

Figura 3-8: Espectro HMQC del compuesto SP-1 (CDCl_3 , 400 MHz).

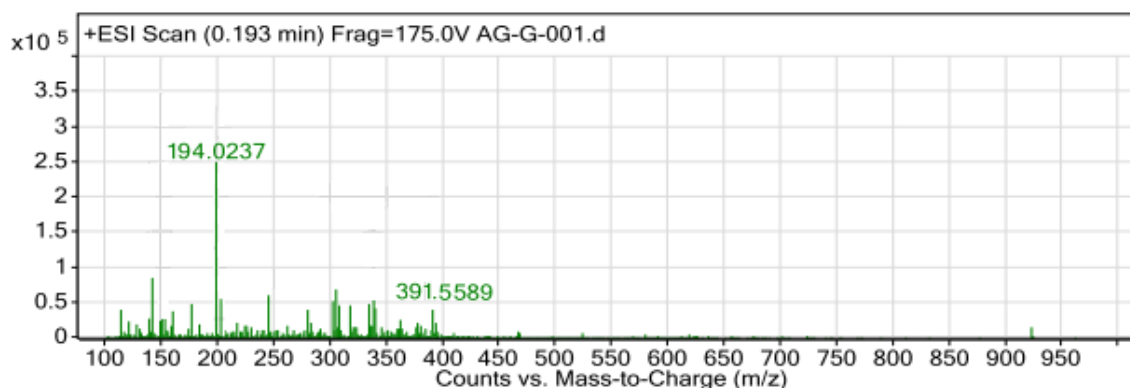


Finalmente, con el espectro HMBC (Figura 3-9), que permite ver correlaciones a larga distancia entre C y H, se logró la ubicación de sustituyentes y la unión de fragmentos propuestos, como la correlación entre los hidrógeno de la cadena alifática δ_H 4.18 (t, $J=$ 6.7 Hz, 2H) y el carbonilo δ_C 167.6, los protones olefinicos δ_H 7.61 (d, $J=$ 15.9 Hz, 1H) y 6.29 (d, $J=$ 15.9 Hz, 1H) con el carbonilo δ_C 167.6 confirmando el sistema α,β insaturado y el protón 7.61 (d, $J=$ 15.9 Hz, 1H) que correlaciona con los carbonos aromáticos δ_C 127.2, 109.4 y 123.2 permitiendo unir la cadena olefínica con el anillo aromático.

Figura 3-9: Espectro HMBC del compuesto SP-1 ($CDCl_3$, 400 MHz)



Para definir el tamaño de la cadena alifática, se recurrió al espectro de masas de alta resolución con ionización “electrospray” HR-ESI-MS (Figura 3-10) para el compuesto SP-1, donde se observa un ión molecular en m/z 391,5589 consistente con la fórmula molecular $C_{24}H_{38}O_4$ (Nkengfack *et al.*, 1997).

Figura 3-10: Espectro de masas por ESI para el compuesto SP-1.

De acuerdo a lo anterior, la estructura corresponde al compuesto identificado como 3-(4-hidroxi, 3-metoxifenil) 2-propenoato de tetradecilo, conocido como *Ferulato de tetradecilo* (Figura 3-11), y cuyos datos de RMN ¹H y RMN ¹³C coinciden con los reportados en la literatura como se observa en la Tabla 3-4 (Sonar *et al.*, 2017; Nkengfack *et al.*, 1997).

Este compuesto ha sido aislado de los tallos y corteza de la raíz de las especies *Erythrina sigmoidea* y *E. eriotricha* (Fabaceae). Además, se destaca su actividad antibacteriana (Nkengfack *et al.*, 1997). En otro estudio más reciente, el compuesto fue aislado de las hojas de la especie *Ocimum sanctum* (Lamiaceae), en este reporte también se resalta su actividad inhibidora de la enzima transcriptasa del virus VIH-1 (Sonar *et al.*, 2017). En la familia Solanaceae, no se ha reportado este metabolito.

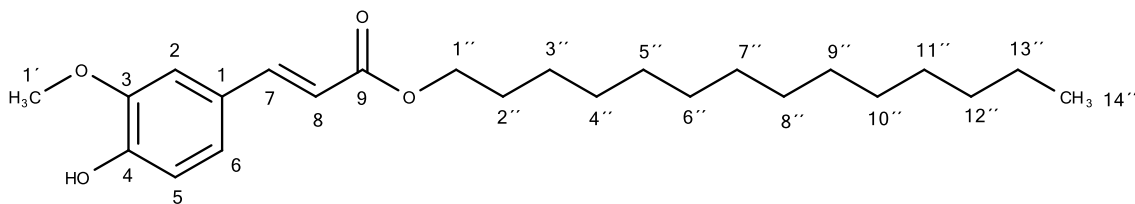
Figura 3-11: Estructura del compuesto SP-1

Tabla 3-4: Comparación de los datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C , del compuesto SP-1.

No. de C	DATOS EXPERIMENTALES		DATOS DE REFERENCIA	
	^1H (CD_3OD , 400 MHz)	^{13}C (CD_3OD , 100 MHz)	^1H (CD_3OD , 300 MHz)	^{13}C (CD_3OD , 75 MHz)
1		127.2		127.1
2	7.03 (d, $J= 1.8$ Hz, 1H)	109.4	7.02 (d, $J= 2.2$ Hz, 1H)	109.3
3		148.1		147.9
4		146.9		147.9
5	6.91 (d, $J=8.2$ Hz, 1H)	114.8	6.93 (d, $J=8.6$ Hz, 1H)	114.7
6	7.07 (dd, $J=8.2, 1.9$ Hz, 1H)	123.2	7.06 (dd, $J=8.6, 2.2$ Hz, 1H)	123.0
7	7.61 (d, $J= 15.9$ Hz, 1H)	144.8	7.60 (d, $J= 16.0$ Hz, 1H)	144.6
8	6.29 (d, $J= 15.9$ Hz, 1H)	115.8	6.26 (d, $J= 16.0$ Hz, 1H)	115.7
9		167.6		167.3
1''	4.18 (t, $J= 6.7$ Hz, 2H)	64.7	4.15 (t, $J= 7.3$ Hz, 2H)	64.6
1'	3.92 (s, 3H)	56.1	3.80 (s, 3H)	55.9
2''	1.68 (m, 2H)	-		-
3''-13''	1.27 (brs, 24H)	-	1.10 – 1.39 (brs, 24H)	-
14''	0.88 (t, $J=6.9$ Hz, 3H)	14.2	0.88 (t, $J=7.3$ Hz, 3H)	14.1
OH	5.91 (sa, 1H)	-	5.82 (sa, 1H)	-

Datos de referencia tomados de (Sonar *et al.*, 2017; Nkengfack *et al.*, 1997).

3.3 Ensayos de actividad antiagregante plaquetaria

El extracto etanólico (EPS) y las fracciones obtenidas a partir del mismo (EPS-1 a EPS-10) fueron sometidos a los ensayos de agregación plaquetaria de acuerdo al procedimiento descrito en la sección 2.6.

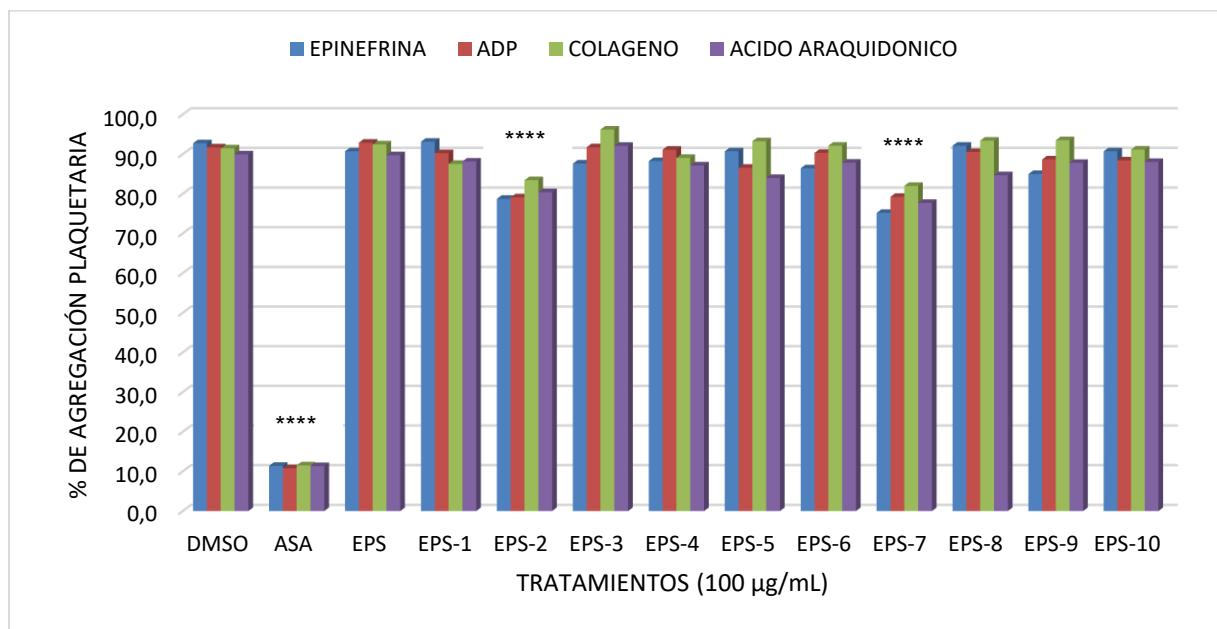
En la Tabla 3-5 y Figura 3-12, se observan los porcentajes de agregación de plaquetas humanas tratadas con el extracto y las fracciones frente a los agonistas de agregación plaquetaria. De allí, podemos inferir que las fracciones y el extracto de *S. tuberosum*, no presentan efectos antiagregantes plaquetarios significativos con respecto al patrón ASA. Sin embargo, de acuerdo con el análisis estadístico, las fracciones EPS-2 y EPS-7 presentan diferencias con respecto al control DMSO. Esto podría indicar, que aunque dichas fracciones no inhiben la agregación plaquetaria en al menos un 50 % para ser consideradas antiagregantes, podrían contener compuestos con actividad, pero por la complejidad del extracto y las fracciones al estar compuestos por varios tipos de metabolitos, pueden presentarse efectos antagonistas sobre los compuestos activos.

Tabla 3-5: Porcentajes de agregación en plaquetas humanas tratadas con el extracto y las fracciones de *S. tuberosum* variedad sabanera.

Muestra	Agonistas de agregación plaquetaria			
	Epinefrina	Ácido araquidónico	ADP	Colágeno
DMSO	92,8 ± 1,6	90,0 ± 1,2	91,7 ± 1,4	91,5 ± 1,8
ASA	11,4 ± 0,9	11,3 ± 0,5	10,8 ± 0,3	11,5 ± 0,5
EPS	90,7 ± 0,9	89,7 ± 2,1	92,9 ± 1,8	92,5 ± 2,2
EPS 1	93,1 ± 2,1	88,1 ± 1,2	90,3 ± 1,1	87,5 ± 1,6
EPS 2	78,7 ± 0,8	80,4 ± 2,2	79,1 ± 0,7	83,4 ± 1,5
EPS 3	87,6 ± 1,5	92,1 ± 1,2	91,7 ± 0,7	96,2 ± 1,1
EPS 4	88,3 ± 1,4	87,2 ± 0,7	91,1 ± 1,9	89,1 ± 1,0
EPS 5	90,7 ± 1,5	84,0 ± 0,9	86,6 ± 3,0	93,3 ± 2,1
EPS 6	86,4 ± 0,9	87,9 ± 0,8	90,3 ± 2,5	92,1 ± 2,4
EPS7	75,2 ± 1,5	77,7 ± 0,8	79,2 ± 0,7	82,0 ± 0,9
EPS 8	92,1 ± 1,0	84,7 ± 0,8	90,5 ± 1,4	93,4 ± 2,4
EPS 9	85,0 ± 0,7	87,8 ± 1,0	88,7 ± 0,9	93,5 ± 1,0
EPS 10	90,7 ± 2,7	88,0 ± 2,9	88,4 ± 2,7	91,2 ± 2,5

Cada punto representa el promedio +/- ESM, de n=3.

Figura 3-12: Efecto antiagregante plaquetario ejercido por el extracto etanólico y las fracciones de *S. tuberosum* variedad sabanera.



****, $P < 0.001$. Tratamientos con diferencia significativa respecto al control DMSO.

Teniendo en cuenta lo anterior, se procedió a realizar el estudio fitoquímico de las fracciones EPS-2 y EPS-7 (Sección 2.4), y de las que fue posible obtener respectivamente los compuestos SP-1 (Elucidado en la sección 3.2) y SP-2 (Elucidado en la sección 3.4).

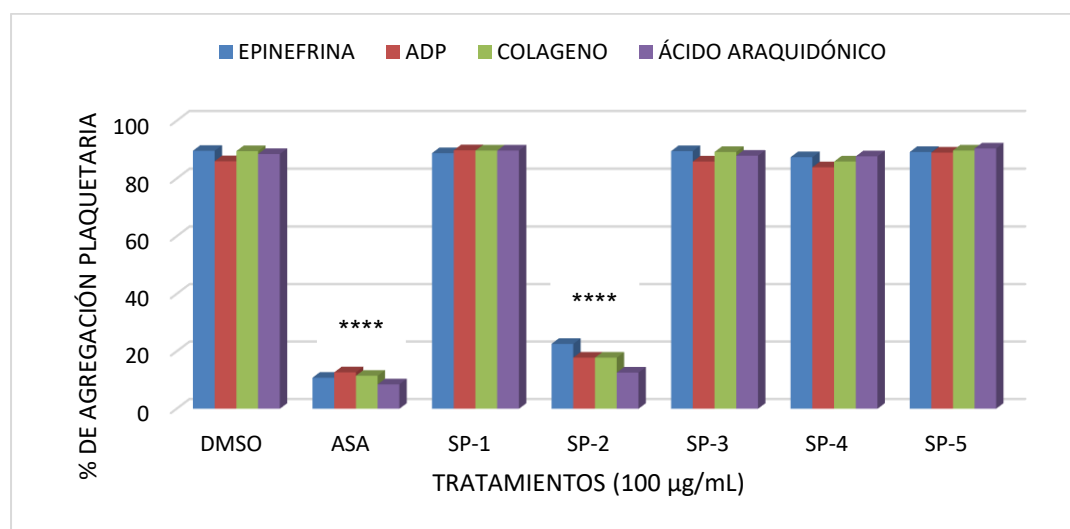
De manera similar al extracto y las fracciones, en la Tabla 3-6 y Figura 3-13, se observan los porcentajes de agregación de plaquetas humanas tratadas con los compuestos aislados frente a los agonistas de agregación plaquetaria. Para este caso, los compuestos SP-1, SP-3, SP-4 y SP-5 no presentaron efectos antiagregantes plaquetarios significativos comparado con el patrón (ASA) y se comportaron de manera similar al control (DMSO). Sin embargo, el compuesto SP-2, de acuerdo al análisis estadístico y los datos obtenidos, presenta diferencia significativa con el control y se comporta de manera similar al patrón. Además, su efecto antiagregante plaquetario se observa frente a los cuatro agonistas de agregación plaquetaria empleados.

Tabla 3-6: Porcentajes de agregación en plaquetas humanas tratadas con los compuestos aislados de *S. tuberosum* variedad sabanera.

Muestra	Agonistas de agregación plaquetaria			
	Epinefrina	Ácido araquidónico	ADP	Colágeno
DMSO	89,6 ± 2,7	88,5 ± 2,7	86,0 ± 3,1	89,5 ± 3,2
ASA	10,8 ± 0,5	8,5 ± 0,4	12,7 ± 0,3	11,5 ± 0,4
SP-1	88,8 ± 3,5	89,7 ± 3,6	89,8 ± 2,9	89,7 ± 3,0
SP-2	22,6 ± 2,0	12,6 ± 0,6	17,8 ± 0,2	17,8 ± 0,9
SP-3	89,5 ± 1,7	87,9 ± 2,8	85,9 ± 1,9	89,2 ± 2,2
SP-4	87,4 ± 1,8	87,7 ± 2,4	83,9 ± 2,4	85,9 ± 1,8
SP-5	89,2 ± 2,4	90,4 ± 2,0	89,0 ± 2,2	89,7 ± 2,0

Cada punto representa el promedio +/- ESM, de $n=3$.

Figura 3-13: Efecto antiagregante plaquetario ejercido por los compuestos aislados del extracto etanólico de *S. tuberosum* variedad sabanera.



****, $P < 0.001$. Tratamientos con diferencia significativa respecto al control DMSO.

Teniendo en cuenta que el compuesto SP-2 fue capaz de inhibir la agregación plaquetaria inducida por los cuatro agonistas estudiados. Se procedió a realizar una segunda fase de ensayos que involucran la construcción de las curvas concentración-inhibición de la agregación plaquetaria del compuesto SP-2 frente a cada uno de los agonistas como se observa en la Tabla 3-7.

Tabla 3-7: Porcentajes de agregación plaquetaria en plaquetas humanas tratadas con el compuesto SP-2 frente a los agonistas epinefrina, ácido araquidónico, ADP y colágeno.

Concentración (µg/mL)	Epinefrina (300 µM)	Colágeno (10 µg/mL)	Ácido araquidónico (500 µg/mL)	ADP (20 µM)
100	24,0 ± 0,8	19,3 ± 0,5	12,6 ± 0,4	18,1 ± 0,4
90	25,6 ± 0,5	20,5 ± 0,5	11,0 ± 0,4	22,8 ± 0,6
80	42,5 ± 0,5	27,6 ± 0,4	22,8 ± 0,4	32,6 ± 0,6
70	57,7 ± 0,6	40,3 ± 0,5	45,6 ± 0,6	47,3 ± 0,5
60	73,3 ± 0,3	72,6 ± 0,5	67,9 ± 0,3	70,7 ± 0,6
50	88,4 ± 0,5	84,4 ± 0,6	88,1 ± 0,5	80,1 ± 0,8
40	90,5 ± 0,5	86,6 ± 0,5	93,1 ± 0,3	85,6 ± 0,4
30	92,1 ± 0,3	85,9 ± 0,1	94,6 ± 0,5	87,4 ± 0,5

Cada punto representa el promedio +/- ESM, de n=3.

Como control se utilizó DMSO (0,4 %) y como patrón ASA (100 µg/mL).

Al construir las curvas de concentración – porcentaje de inhibición de la agregación plaquetaria para el compuesto SP-2 frente a los cuatro agonistas de agregación plaquetaria (Figura 3-14), se obtienen los valores de CI₅₀ como se observa en la Tabla 3-8.

Figura 3-14: Curva de concentración – porcentaje de inhibición de la agregación plaquetaria en plaquetas humanas tratadas con el compuesto SP-2, frente a los cuatro agonista de agregación plaquetaria.

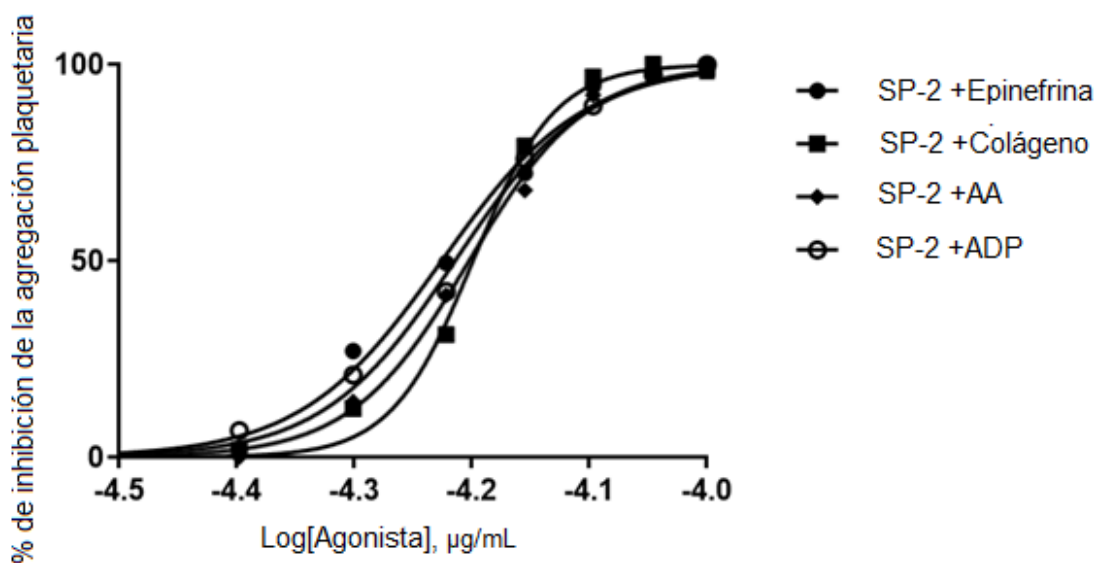


Tabla 3-8: Valores de CI_{50} con su respectivo intervalo de confianza (95 %) del compuesto SP-2 sobre la agregación plaquetaria inducida por los agonistas epinefrina, ADP, colágeno y ácido araquidónico.

Agonista	CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Intervalo de confianza (95%)
Epinefrina (300 μM)	59,47	58,49 – 60,46
ADP (20 μM)	61,05	60,31 – 61,79
Colágeno (10 $\mu\text{g/mL}$)	63,23	62,53 – 63,94
Ácido araquidónico (500 $\mu\text{g/mL}$)	62,75	62,10 – 63,41

Los resultados obtenidos, indican que el compuesto SP-2 posee efectos antiagregantes plaquetarios concentración-dependiente sobre la activación de los agonistas empleados. Por tal razón, se puede inferir que este compuesto es un antiagregante plaquetario y contribuye junto con otro tipo de compuestos presentes en la peridermis de *S. tuberosum*, a los efectos cardiovasculares beneficiosos en el ser humano de acuerdo a los usos etnobotánicos reportados.

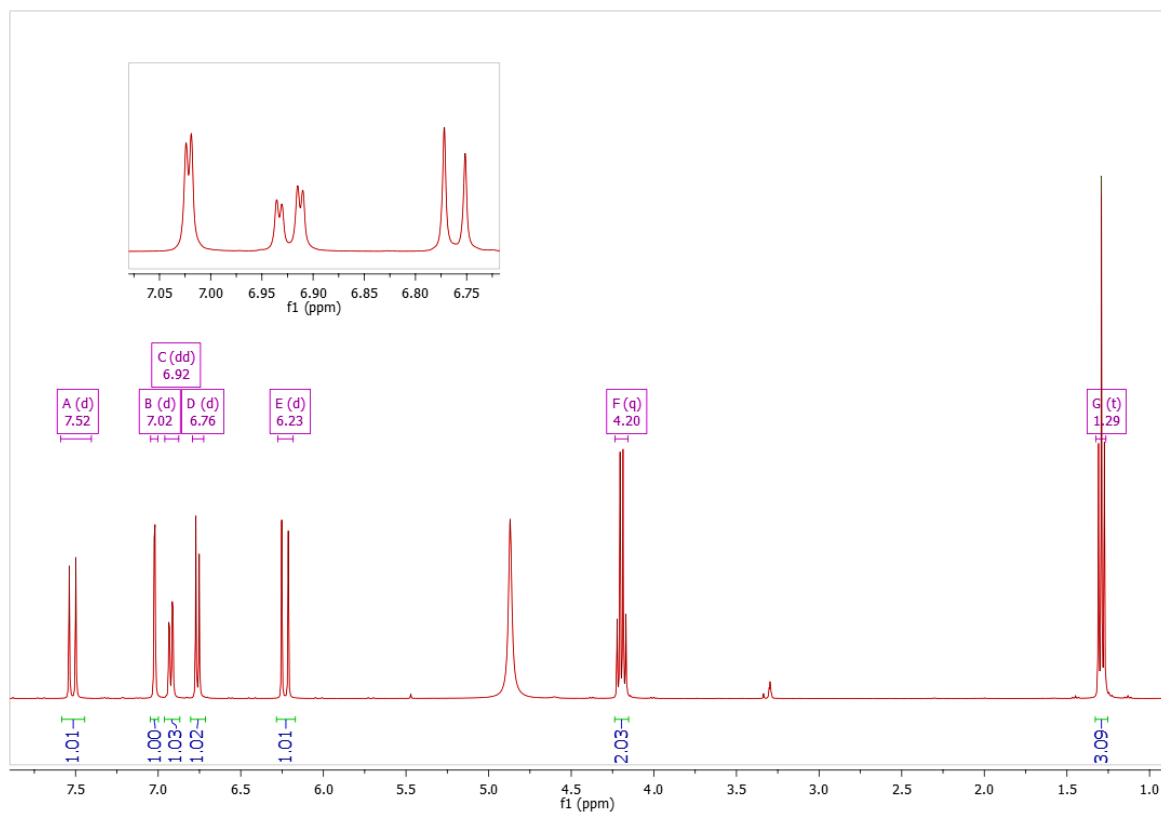
3.4 Estudio fitoquímico de la fracción EPS-7

Teniendo en cuenta los resultados de la actividad antiagregante plaquetaria (Sección 3.3), La fracción EPS-7 (1.487 mg), fue fraccionada utilizando diferentes técnicas cromatográficas y sistemas de disolventes como se describió en la sección 2.4, obteniéndose el compuesto SP-2 (140 mg).

3.4.1 Elucidación estructural del compuesto SP-2

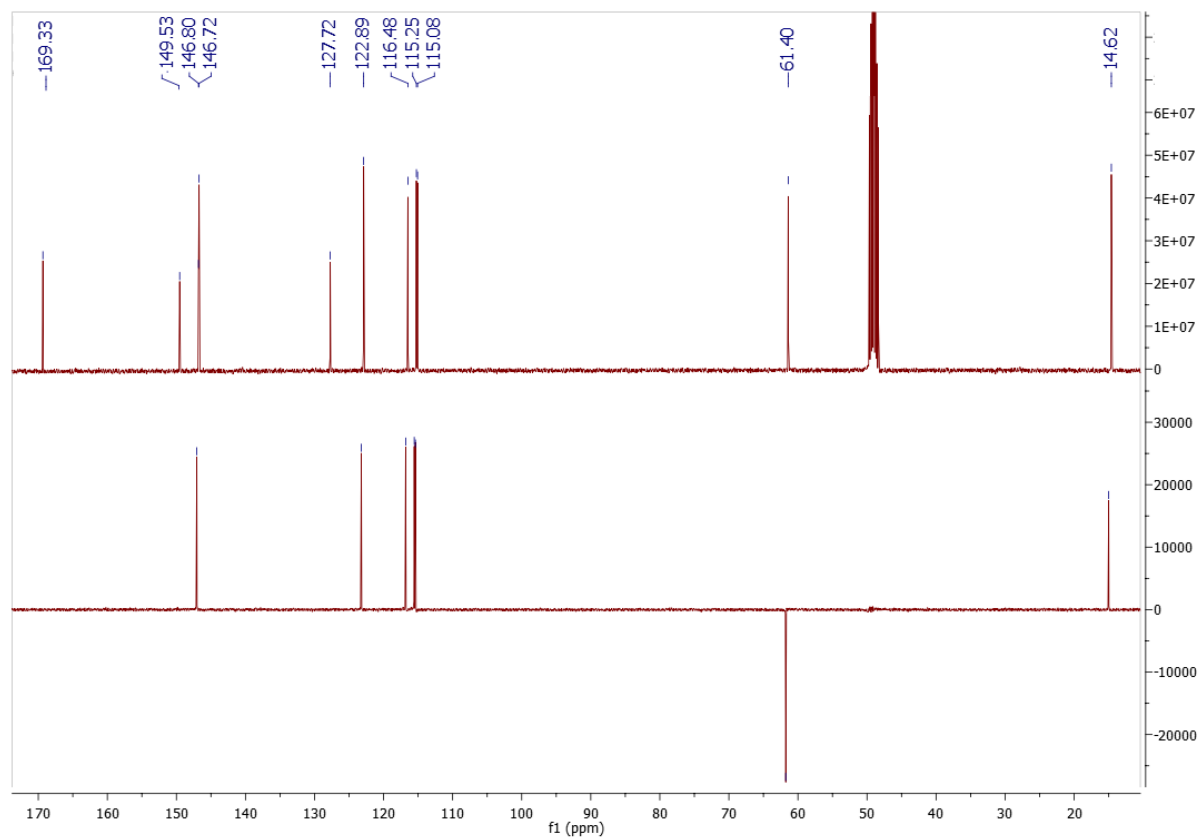
El compuesto SP-2 se observó en CCD como una sola mancha y fue obtenido como un sólido cristalino blanco con punto de fusión de 133 - 134 °C y fórmula molecular $C_{11}H_{12}O_4$.

El espectro de RMN 1H (Figura 3-15), muestra señales que integran para 10 hidrógenos, de allí, se destacan a campo alto el triplete δ_H 1.29 (3H, t, $J= 7.1$ Hz) correspondiente a un metilo unido a un metileno cuya señal se observa en δ_H 4.20 (2H, q, $J= 7.1$ Hz), también se observan las señales δ_H 6.23 (1H, d, $J= 15.9$ Hz) y δ_H 7.52 (1H, d, $J= 15.9$ Hz) correspondientes a dos hidrógenos vecinales de tipo vinílico, y en la región aromática, las señales δ_H 6.76 (1H, d, $J=8.2$ Hz), δ_H 6.92 (1H, dd, $J=8.2, 2.0$ Hz) y δ_H 7.02 (1H, d, $J= 2.0$ Hz) correspondientes a hidrógenos de un anillo aromático trisustituído en posiciones *orto* y *meta* respectivamente.

Figura 3-15: Espectro de RMN ^1H del compuesto SP-2 (CD_3OD , 400 MHz).

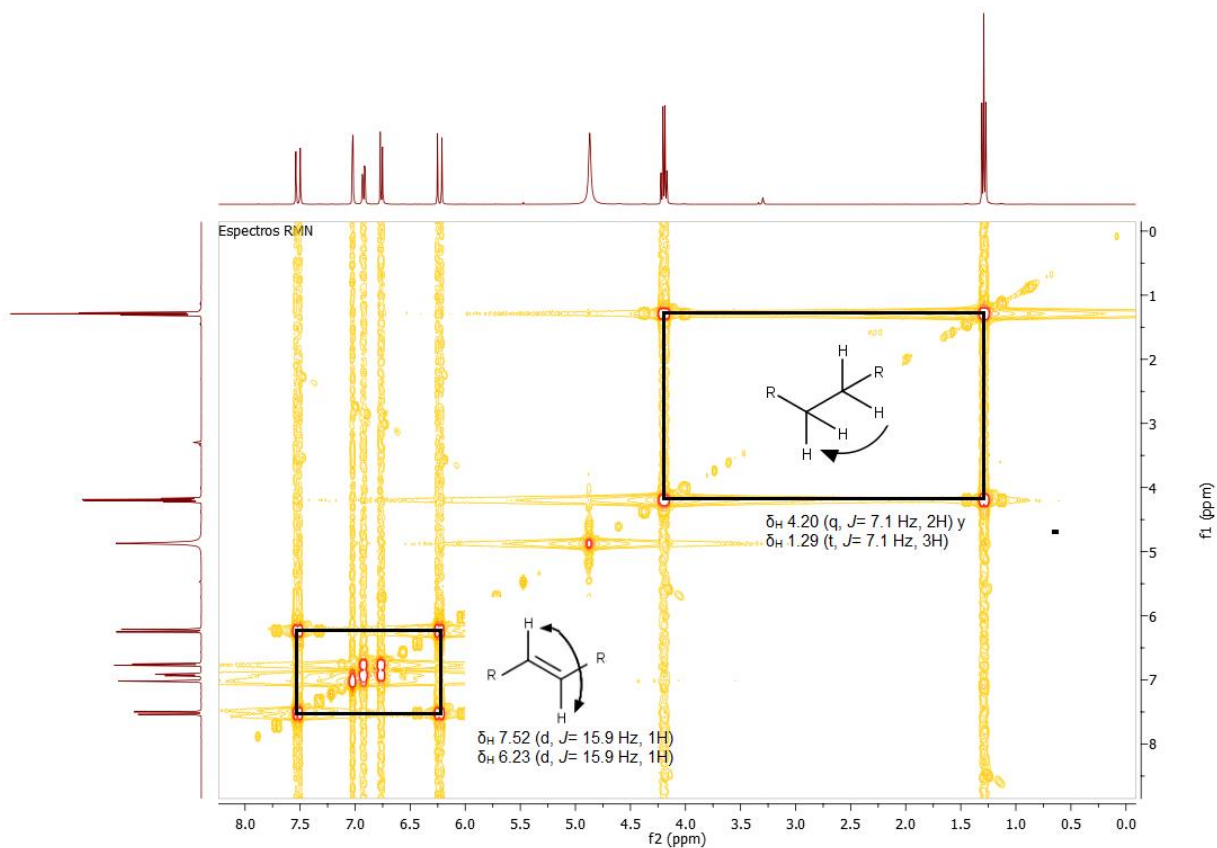
En los espectros de RMN ^{13}C y DEPT 135 (Figura 3-16), se observan señales para 11 carbonos que corresponden a: un metilo δ_{C} 14.6, un metileno δ_{C} 61.4, cinco metinos de los cuales dos δ_{C} 115.2 y 146.7 corresponden a carbonos vinílicos y los tres restantes a carbonos aromáticos δ_{C} 115.0, 116.4 y 122.8. Posteriormente, las señales de cuatro carbonos cuaternarios, de los cuales, uno corresponde a carbonos aromáticos δ_{C} 127.7, dos a carbonos aromáticos unidos a oxígeno δ_{C} 146.8 y 149.5 y un carbono δ_{C} 169.3 que por su desplazamiento pertenece a un carbono carbonilo α - β insaturado.

Figura 3-16: Espectro de RMN ^{13}C y DEPT 135 del compuesto SP-2 (CD_3OD , 100 MHz).



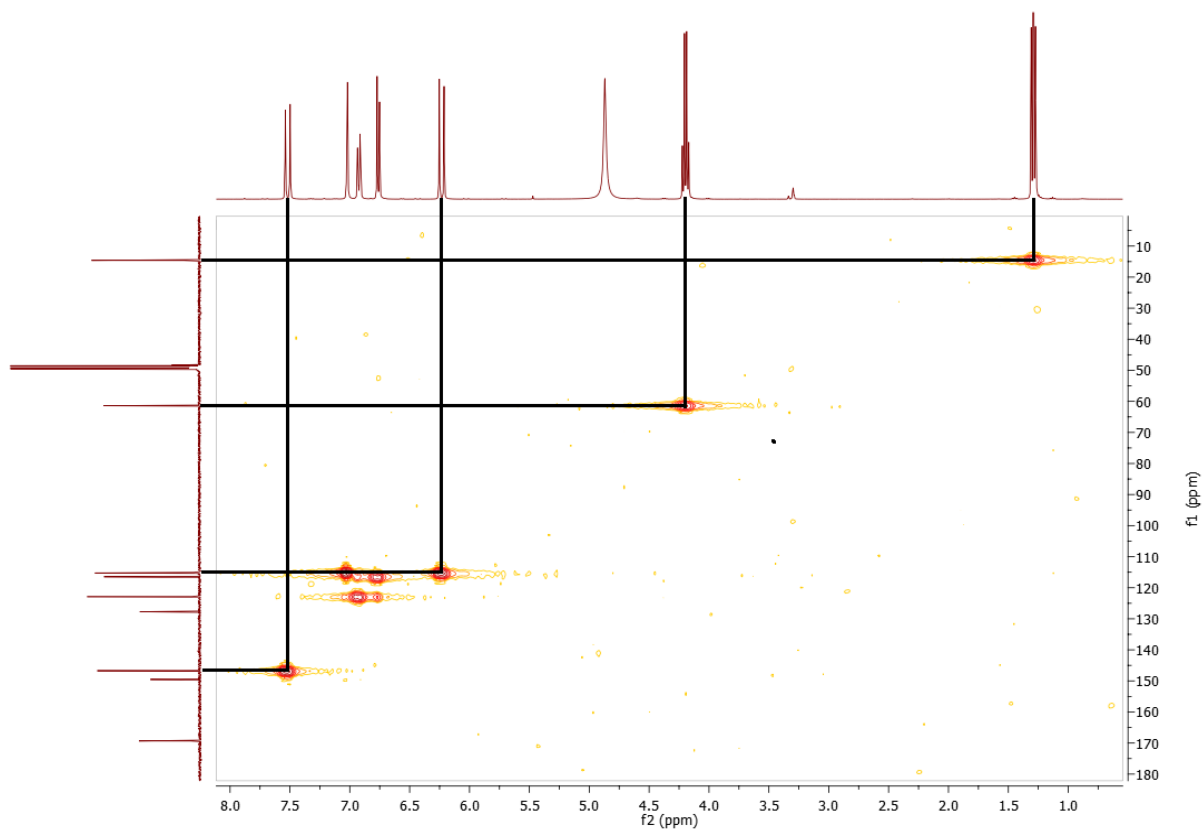
El espectro COSY (Figura 3-17), permitió establecer correlaciones entre núcleos de hidrógenos vecinales, de aquí podemos observar la correlación entre los hidrógenos vinílicos δ_H 7.52 (d, $J= 15.9$ Hz, 1H) y δ_H 6.23 (d, $J= 15.9$ Hz, 1H) en posición *trans* y entre los hidrógenos δ_H 4.20 (q, $J= 7.1$ Hz, 2H) y δ_H 1.29 (t, $J= 7.1$ Hz, 3H) de la parte alifática de la molécula.

Figura 3-17: Espectro COSY del compuesto SP-2 (CD₃OD, 400 MHz).



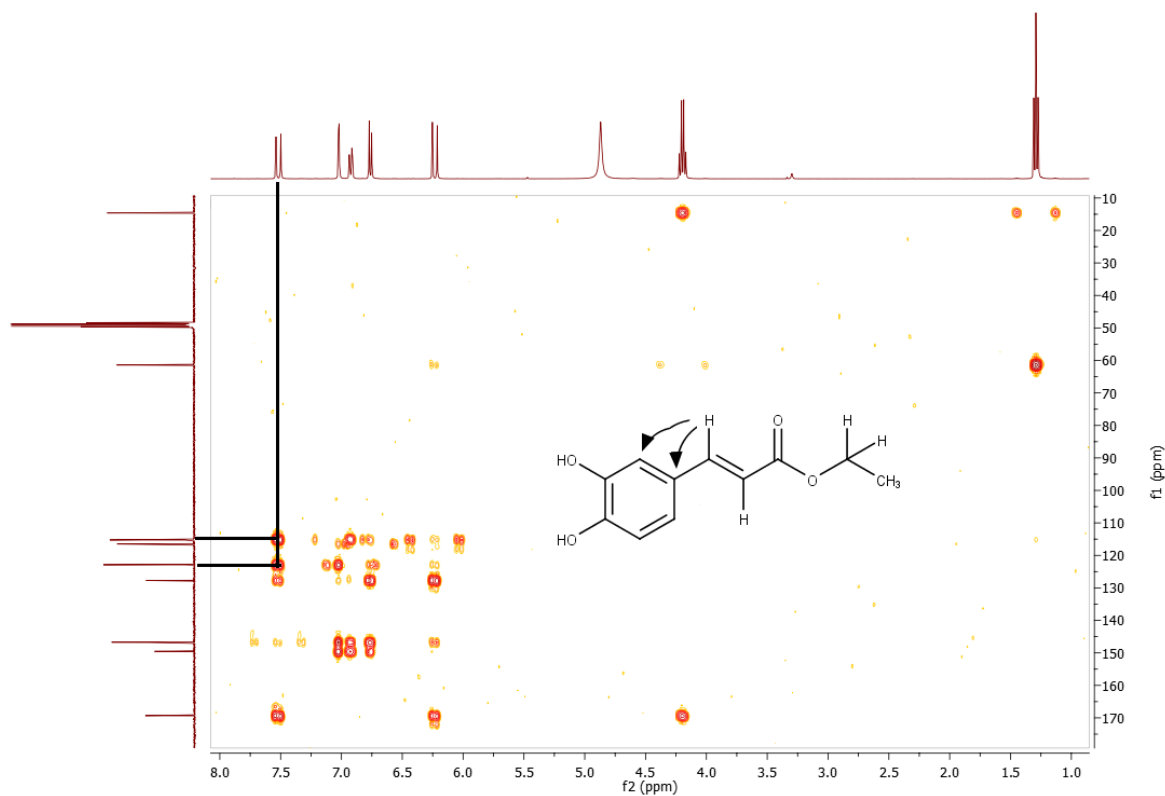
En el espectro HMQC (Figura 3-18), se observa la correlación entre un carbono y sus hidrógenos respectivos. Las principales correlaciones son los hidrógenos δ_H 1.29 (t, $J= 7.1$ Hz, 3H) conectados con el carbono δ_C 14.6, los hidrógenos δ_H 4.20 (q, $J= 7.1$ Hz, 2H) con el carbono δ_C 61.4, el hidrógeno δ_H 7.52 (d, $J= 15.9$ Hz, 1H) con el carbono δ_C 146.7 y el hidrógeno δ_H 6.23 (d, $J= 15.9$ Hz, 1H) con el carbono δ_C 115.2.

Figura 3-18: Espectro HMQC del compuesto SP-2 (CD₃OD, 400 MHz).



Finalmente, con el espectro HMBC (Figura 3-19), que permite ver correlaciones a larga distancia entre C y H, se logró la ubicación de sustituyentes y la unión de fragmentos propuestos, como la correlación entre el hidrógeno δ_H 7.52 (d, $J= 15.9$ Hz, 1H) del sustituyente olefínico con los carbonos δ_C 127.7 y 115.0 del anillo aromático.

Figura 3-19: Espectro HMBC del compuesto SP-2 (CD₃OD, 400 MHz)



De acuerdo a lo anterior, la estructura corresponde al compuesto identificado como 3-(3,4-dihidroxifenil) 2-propenoato de etilo, conocido como *Cafeato de etilo* (Figura 3-20), y cuyos datos de RMN ¹H y RMN ¹³C coinciden con los reportados en la literatura como se observa en la Tabla 3-9 (Seung-Jae *et al.*, 2016).

El *cafeato de etilo* también ha sido reportado en especies como: *Salvia plebeia* (Lamiaceae), *Ilex latifolia* Thunb. (Aquifoliaceae) y *Ligularia fischeri* (Asteraceae). Además, se le atribuyen actividades biológicas de interés como antioxidante, antiinflamatorio y anticancerígeno (Ting *et al.*, 2014; Ha *et al.*, 2014). Este compuesto ya ha sido reportado en el tubérculo de *S. tuberosum* (Solanaceae), sin embargo, no se efectuó ningún estudio sobre su actividad antiagregante plaquetaria o antihipertensiva (Buitrago, 2011).

Figura 3-20: Estructura del compuesto SP-2

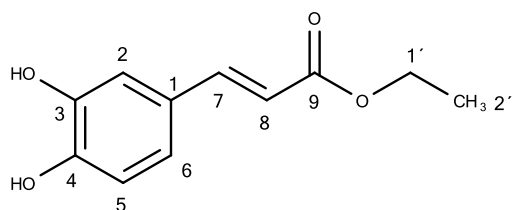


Tabla 3-9: Comparación de los datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C , del compuesto SP-2.

No. de C	DATOS EXPERIMENTALES		DATOS DE REFERENCIA	
	^1H (CD_3OD , 400 MHz)	^{13}C (CD_3OD , 100 MHz)	^1H (CD_3OD , 400 MHz)	^{13}C (CD_3OD , 100 MHz)
1		127.7		127.9
2	7.02 (d, $J= 2.0$ Hz, 1H)	115.0	7.03 (d, $J=1.2$ Hz, 1H)	116.6
3		146.8		146.9
4		149.5		149.7
5	6.76 (d, $J=8.2$ Hz, 1H)	122.8	6.77 (d, $J= 8.0$ Hz, 1H)	123.0
6	6.92 (dd, $J=8.2, 2.0$ Hz, 1H)	116.4	6.94 (d, $J= 8.0$ Hz, 1H)	115.4
7	7.52 (d, $J= 15.9$ Hz, 1H)	146.7	7.53 (d, $J= 16.0$ Hz, 1H)	147.0
8	6.23 (d, $J= 15.9$ Hz, 1H)	115.2	6.24 (d, $J= 16.0$ Hz, 1H)	115.3
9		169.3		169.5
1'	4.20 (q, $J= 7.1$ Hz, 2H)	61.4	4.22 (q, $J= 7.2$ Hz, 2H)	61.5
2'	1.29 (t, $J= 7.1$ Hz, 3H)	14.6	1.30 (t, $J= 7.2$ Hz, 3H)	14.8

Datos de referencia tomados de (Seung-Jae *et al.*, 2016).

4. Conclusiones y recomendaciones

4.1 Conclusiones

A partir del extracto etanólico de la peridermis del tubérculo de la especie *S. tuberosum* variedad sabanera y utilizando diferentes técnicas cromatográficas y espectroscópicas, se logró aislar e identificar dos compuestos. El primero 3-(4-hidroxi, 3-metoxifenil), 2-propenoato de tetradecilo, conocido como *Ferulato de tetradecilo*, y del cual este es el primer reporte en especies de la familia Solanaceae; y el segundo compuesto nombrado como 3-(3, 4-dihidroxifenil) 2-propenoato de etilo, conocido como *Cafeato de etilo*.

La fracción apolar EPS-2 obtenida a partir del extracto etanólico, presenta actividad antihipertensiva en rata desmedulada estimulada con noradrenalina. Sin embargo, esta actividad no es atribuida a los ésteres de ácido graso como se planteó en estudios anteriores, donde se proponían el *palmitato de etilo* y *estearato de etilo* presentes en este tipo de fracciones, como los metabolitos responsables del efecto hipotensor. Esto permite inferir que la actividad antihipertensiva de la fracción EPS-2 puede ser el resultado de interacciones sinérgicas de otros componentes como el *Ferulato de tetradecilo*, aislado de esta fracción.

El compuesto *Cafeato de etilo* presenta una potente actividad antiagregante plaquetaria frente a los cuatro agonistas de agregación (Epinefrina, Colágeno, Ácido araquidónico y ADP), logrando porcentajes de inhibición de la agregación plaquetaria similares a las del patrón usado en los ensayos, el ácido acetilsalicílico (ASA).

Los resultados de este trabajo de investigación, realizan un aporte químico por la identificación de un nuevo metabolito para la especie *S. tuberosum*, y biológico al resaltar el potencial farmacológico de la especie como fuente de metabolitos activos para el tratamiento de afecciones cardiovasculares.

4.2 Proyecciones y recomendaciones

Se recomienda realizar los estudios de actividad antihipertensiva en rata desmedulada del compuesto *Ferulato de tetradecilo* aislado de la fracción activa EPS-2, ya que este metabolito es el potencial responsable del efecto hipotensor.

Evaluar la actividad antiagregante plaquetaria del compuesto activo *Cafeato de etilo* con agonistas de agregación plaquetaria diferentes a los evaluados en este trabajo, con el fin de estudiar e identificar su mecanismo de acción.

Continuar con los estudios fitoquímicos de la peridermis del tubérculo de *S. tuberosum*, para aislar e identificar otros metabolitos con propiedades terapéuticas, principalmente con efectos cardiovasculares y prestando especial atención a las fracciones apolares que han demostrado ser las más activas.

Extender la búsqueda de metabolitos activos en otras variedades de *S. tuberosum* y tubérculos de otras especies.

Es recomendable partir de una buena cantidad de tubérculos para obtener la peridermis, ya que al ser una capa de células muy delgada, los rendimientos del extracto, fracciones y compuestos suele ser baja.

A. Anexo: Consentimiento informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Bogotá D.C., ____ de _____ del 201__

Yo _____, identificado con la cédula de ciudadanía número _____ de _____, **autorizo** para que se me realice la extracción aproximada de 18 mL de sangre total por punción venosa de la vena del pliegue del codo.

Estas muestras serán utilizadas para los estudios de agregación plaquetaria por parte del candidato a Magister Juan Carlos León Peña de la Universidad Nacional de Colombia, en su proyecto de tesis de maestría titulado **“Estudio químico y evaluación de la actividad antihipertensiva y antiagregante plaquetaria del extracto de peridermis de *Solanum tuberosum* (Solanaceae)”**.

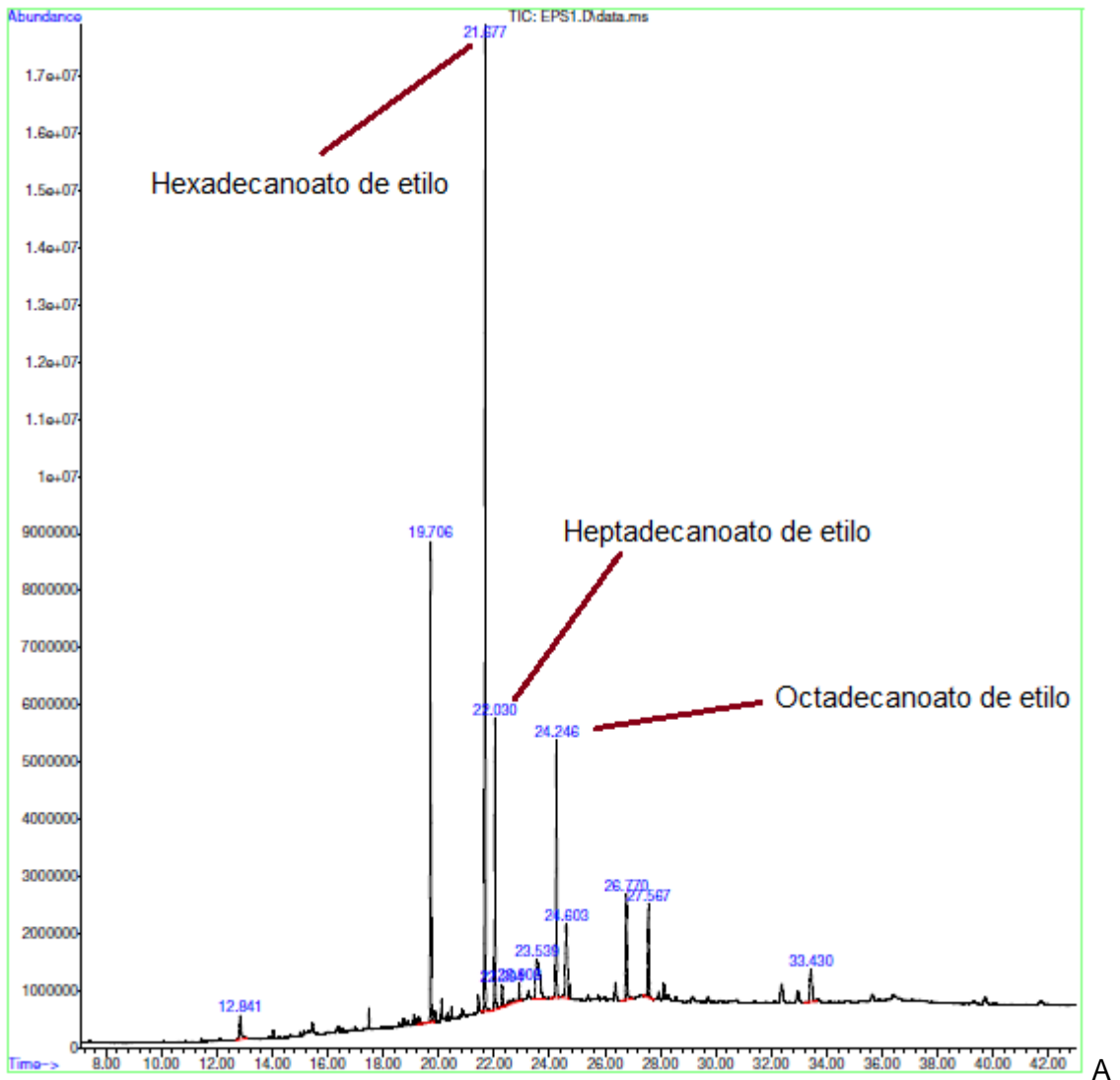
He sido informado/a de los posibles perjuicios que la extracción de una muestra de 18 mL de sangre puede tener sobre mi bienestar y salud.

He sido también informado/a de que mis datos personales serán protegidos de acuerdo con lo que dispone la ley orgánica reguladora de esta materia y no serán usados sin mi consentimiento previo.

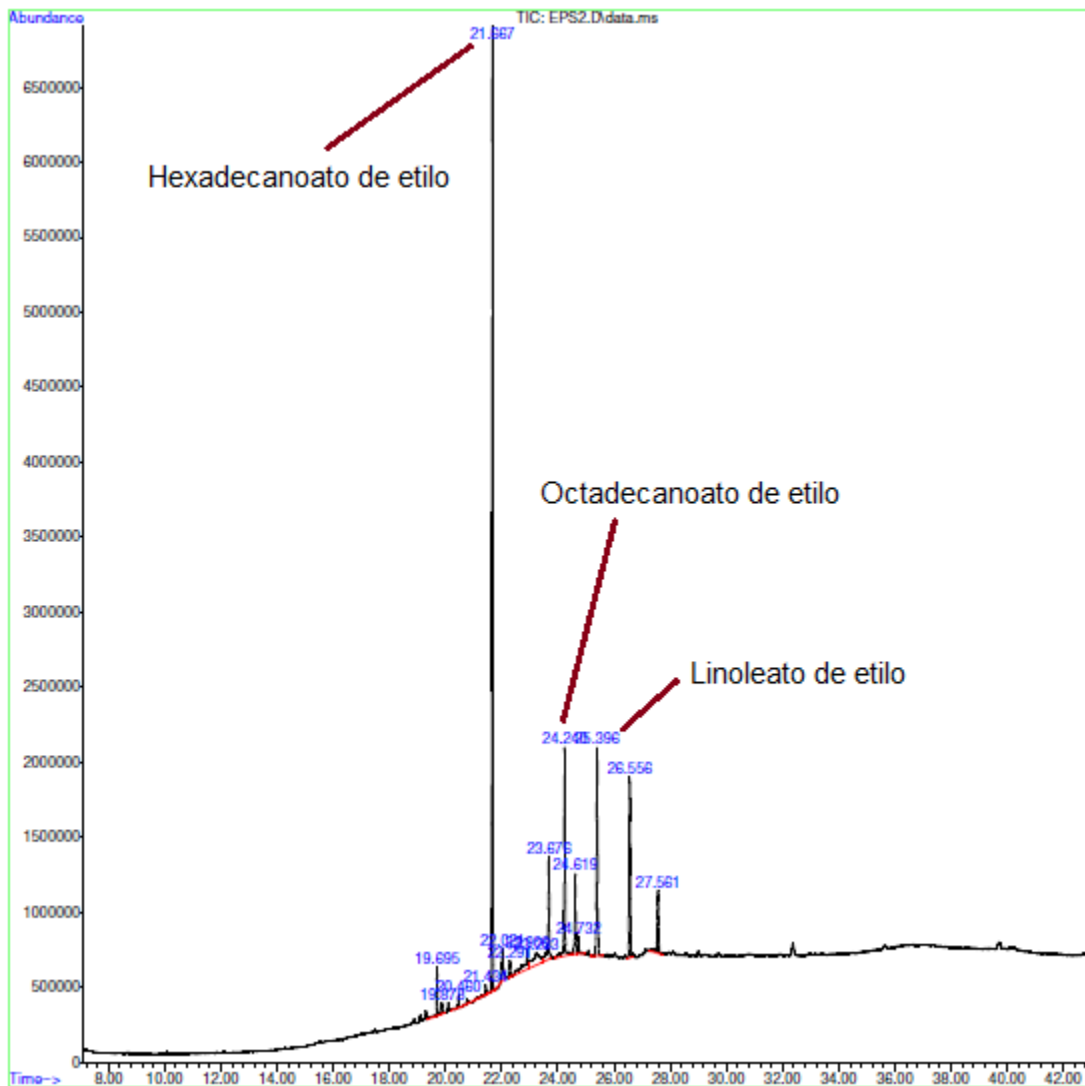
Tomando ello en consideración, otorgo mi consentimiento a que esta extracción tenga lugar y sea utilizada para cubrir los objetivos especificados en el proyecto.

Firma

B. Anexo: Cromatogramas de la caracterización preliminar de las fracciones apolares



TIC de la fracción EPS-1 obtenida a partir del extracto etanólico de *S. tuberosum*.



TIC de la fracción EPS-2 obtenida a partir del extracto etanólico de *S. tuberosum*.

Bibliografía

Awtry, E. y Loscalzo, J. Aspirin. *Circulation*. **2000**, 101(10), 1206-1218.

Baéz, L., Blanco, M., Bohórquez, R., Botero, R., Cuenca, G., D'Achiardi, R., Garrido, F., Gómez, A., Luengas, C., Manzur, F., Márquez, G., Muñoz, A., Otero, L., Roa, N., Palacio, A., Peña, P., Ramírez, E., Saaibi, J., Sánchez, D., Silva, C., Suárez, A., Tenorio, L., Urina, M., Urrego, J., Varela, E. y Vergara, J. Guías colombianas para el diagnóstico y tratamiento de la hipertensión arterial. *Rev Colomb Card*. **2007**, 13(1), 189-317.

Berdonces, J. L. *Gran Enciclopedia de las Plantas Medicinales*. Editorial Océano. Barcelona, España. **2004**, pp. Tomo I (444) y Tomo II (891, 957).

Born, G. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature*. **1962**, 194, 927-929. (Consultado por Buitrago, 2011)

Buitrago, D. M. Estudio de los mecanismos antihipertensivos y antiagregantes plaquetarios de los metabolitos secundarios obtenidos de *Solanum tuberosum*. Tesis de doctorado. Departamento de Farmacia. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá D.C. Colombia. **2011**, pp. 3-189.

Buitrago, D., Ramos, G., Rincón, J. y Guerrero, M. Actividad antiagregante del extracto etanólico de *Solanum tuberosum* en plaquetas humanas. *Vitae*. **2007**, 14(1), 49-54.

Cárdenas, P.D., Sonawane, P. D., Heinig, U., Bocobza, S. E., Burdman, S. y Aharoni, A. The bitter side of the nightshades: Genomics drives discovery in Solanaceae steroidal alkaloid metabolism. *Phytochemistry*. **2015**, 113, 24-32.

Cardona, J. E. Estudio de metabolitos fijos y volátiles en tres morfotipos de cocona (*Solanum sessiliflorum* Dunal) procedentes del departamento del Guaviare. Tesis de Maestría. Departamento de química. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá D.C., Colombia. **2011**, pp.7-24.

Casero, C., Oberti, J., Orozco, C., Cárdenas, A., Brito, I., Barboza, G. y Nicotra, V. Withanolides from three species of the genus *Deprea* (Solanaceae). Chemotaxonomical considerations. *Phytochemistry*. **2015**, 110, 83-90.

Cen, C., Fengqin, W., Wem, X., Zhining, X., Guang, H., Jianbo, W, y Fengqing, Y. Effect on platelet aggregation activity: extracts from 31 Traditional Chinese Medicines with the property of activating blood and resolving stasis. *J Tradit Chin Med*. **2017**, 37(1), 64-75.

Colmenares, A., Rojas, L., Mitaine-Offer, A., Pouységu, L., Quideau, S., Miyamoto, T., Tanaka, C., Pauululat, T., Usubillaga, A. y Lacaille-Dubois, M. Steroidal saponins from the fruits of *Solanum torvum*. *Phytochemistry*. **2013**, 86, 137-143.

Córdova, V., Vargas, P., Vega, C., Quintero, M. y Hurtado, R. Agregometría plaquetaria: el estudio de la agregación de las plaquetas y la disfunción plaquetaria. *Med Int Mex*. **2011**, 27(1), 58-74.

Eirch, E. Solanaceae and Convolvulaceae: Secondary, Biosynthesis, Chemotaxonomy, Biological and Economic Significance (A Handbook). Springer. Berlín, Alemania. **2008**, pp. 11-12.

Espitia, J. Evaluación de la actividad antiagregante plaquetaria de extractos y/o fracciones aislados de especies de la familia Lauraceae y posibles mecanismos de acción. Tesis de Maestría. Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. **2014**, pp. 1-37.

Faggio, C., Sureda, A., Morabito, S., Sanches-Silva, A., Mocan, A., Fazel, S., Mohammad, S. Flavonoids and platelet aggregation: A brief review. *Eur J Pharmacol.* **2017**, 807, 91-101.

Fawzy, M. y Farouk, H. Fatty acids and bioactive lipids of potato cultivars: An overview. *J Oleo Sci.* **2016**, 65(6), 459-470.

Fedepapa. Morfología del tubérculo de *Solanum tuberosum*. Consultado el 25 de Abril de **2015**, a través del portal http://www.fedepapa.com/?page_id=1896

Fonnegra, R. y Jiménez, S. *Plantas medicinales aprobadas en Colombia*. Editorial Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. **2007**, Segunda edición, pp. 274.

Friedman, M. Chemistry, biochemistry, and dietary role of potato polyphenols. A review. *J Agric Food Chem.* **1997**, 45, 1523-1540.

Friedman, M. y Levin, C. Analysis and biological activities of potato glycoalkaloids, calystegine alkaloids, phenolic compounds, and anthocyanins. *Advances in Potato Chemistry and Technology*.; chapter 6: **2009**, 126-161.

Fuentes, E., Astudillo, L., Gutierrez, M., Contreras, S., Bustamante, L., Rubio, P., Moore-Carrasco, R., Alarcon, M., Fuentes, J., Gonzalez, D. y Palomo, I. Fractions of aqueous and methanolic extracts from tomato (*Solanum lycopersicum* L.) present platelet antiaggregant activity. *Blood Coagul. Fibrinolysis.* **2012**, 23(2), 109–117.

García, M. y Coma, C. Características estructurales y funcionales de las plaquetas. *Rev Cubana Angiol y Cir Vasc.* **2000**, 1(2), 132-141.

Global biodiversity information facility. Distribución geográfica y clasificación taxonómica de la especie *Solanum tuberosum*. Consultado el 9 de Abril de **2015**, a través del portal <http://www.gbif.org/species/7299250>

Global Biodiversity Information facility. Distribución geográfica de la familia Solanaceae. Fotografía obtenida el 14 de Abril de **2015**, a través del portal <http://www.gbif.org/species/7717>

Goleniowski, M. E., Bongiovanni, G. A., Palacio, L., Nuñez, C. O. y Cantero, J. J. Medicinal plants from the “Sierra de Comechigones”, Argentina. *J Ethnopharmacol.* **2004**, 107, 324-341.

Gómez, J. y Guerrero, M. Evaluación de los efectos cardiovasculares del extracto y compuestos de *Solanum tuberosum* en rata desmedulada. *Vitae.* **2009**, 16(3), 320-326.

Graça, J., Cabral, V., Santos, S., Lamosa, P., Serra, O., Molinas, M., Schreiber, L., Kauder, F. y Franke, R. Partial depolymerization of genetically modified potato tuber periderm reveals intermolecular linkages in suberin polyester. *Phytochemistry.* **2015**, 117, 209-219.

Guerrero, M., Carrón, R. y Martín, M. Identificación de la actividad hipotensora del extracto etanólico de *Solanum tuberosum* en ratas. *Rev Colomb Cienc Quim Farm.* **2003**, 32(1), 30-36.

Guerrero, M., Carrón, R., Martín, M., San Román, I. y Reguero, M. Antihypertensive and vasorelaxant effects of aqueous extract from *Croton schiedeanus* Schlecht in rats. *J Ethnopharmacol.* **2001**, 75(1), 33-36.

Ha, L., Jin-Kyu, K.,Jae, K., Sang-Jin, L., Eun-Kyung, A., Joa, S. A mechanistic study on the anti-cancer activity of ethyl caffeate in human ovarian cancer SKOV-3 cells. *Chem-Biol Interact.* **2014**, 219, 151 – 158.

Ibarrola, D. A., Hellión, M. C., Montalbetti, Y., Heinichen, O., Campuzano, M. A., Kennedy, M. L., Alvarenga, N., Ferro, E. A., Dölz, J. H. y Momose, Y. Antihypertensive effect of nuatigenin-3-O- β -chacotriose from *Solanum sisymbriifolium* Lam. (Solanaceae) (ñuatí pytâ) in experimentally hypertensive (ARH + DOCA) rats under chronic administration. *Phytomedicine*. **2011**, 18, 634-640.

Judd, W. J., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., Stevens, P. F. y Donoghue, M. J. Plant systematics. A phylogenetic approach. Sinauer associates, inc. Sunderland, Massachusetts, USA. Third edition. **2010**, pp. 459-462.

Knight, J. Antiplatelet treatment in stable coronary artery disease. *Heart*. **2003**, 89, 1273-1278.

Leri, F., Innocenti, M., Andrenelli, L., Vecchio, V. y Mulinacci, N. Rapid HPLC/DAD/MS method to determine phenolic acids, glycoalkaloids and anthocyanins in pigmented potatoes (*Solanum tuberosum* L.) and correlations with variety and geographical origin. *Food Chem*. **2011**, 125, 750-759.

López, A. y Macaya, C. Plaqueta: fisiología de la activación y la inhibición. *Rev Esp. Cardiol*. **2013**, 13(B), 2-7.

Lulai, E. y Freeman, T. P. The importance of phellogen cells and their structural characteristics in susceptibility and resistance to excoriation in immature and mature potato tuber (*Solanum tuberosum* L.) periderm. *Ann Bot*. **2001**, 88, 555-561.

Makheja, A. y Bailey, J. Antiplatelet constituents of garlic and onion. *Agents Actions*. **1990**, 29(3-4), 360-363

Mancia, G., Fagard, R., Narkiewicz, K., Redon, J., Zanchetti, A., Böhm, M., Christiaens, T., Cifkova, R., De Backer, G., Dominiczak, A., Galderisi, M., Grobbee, D., Jaarsma, T., Kirchhof, P., Kjeldsen, S., Laurent, S., Manolis, A., Nilsson, P., Ruilope, L., Schmieder, R., Monteiro, M., O'Connor, J, y Martínez, M. La citometría de flujo en el análisis de las plaquetas. Aspectos estructurales y funcionales de las plaquetas. *Rev Diagn Biol.* **2001**, 50(3), 111-136.

Mancia, G., Fagard, R., Narkiewicz, K., Redon, J., Zanchetti, A., Böhm, M., Christiaens, T., Cifkova, R., De Backer, G., Dominiczak, A., Galderisi, M., Grobbee, D., Jaarsma, T., Kirchhof, P., Kjeldsen, S., Laurent, S., Manolis, A., Nilsson, P., Ruilope, L., Schmieder, R., Sirnes, P., Sleight, P., Viigimaa, M., Waeber, B. y Zannad, F. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension. *Blood Pressure.* **2013**, Early online: 1-86.

Merck, E. Reactivos de coloración para cromatografía en capa fina y en papel. *Merk.* **1972**.

Monteiro, M., O'Connor, J, y Martínez, M. La citometría de flujo en el análisis de las plaquetas. Aspectos estructurales y funcionales de las plaquetas. *Rev Diagn Biol.* **2001**, 50(3), 111-136.

Navarre, R. y Pavek, M. J. The Potato: Botany, production and uses. CAB International. United States Department of Agriculture. Boston, USA. **2014**, pp. 64-69.

Nayana, J., Ajith, T. y Janardhanan, K. Methanol extract of the oyster mushroom, *Pleurotus florida*, inhibits inflammation and platelet aggregation. *Phytother Res.* **2004**, 18(1), 43–46

Nkengfack, A., Vouffo, T., Vardamides, J., Kouam, J., Fomun, Z., Meyer, M. y Sterner, O. Phenolic metabolites from *Erythrina* species. *Phytochemistry.* **1997**, 46(3), 573-578.

Núñez, C. E. Variedades Colombianas de Papa. Editorial Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía. Bogotá, Colombia. **2011**, pp. 37.

Organización mundial de la salud OMS. Información general sobre la hipertensión en el mundo: Una enfermedad que mata en silencio, una crisis de salud pública mundial. *WHO Document production services*. Ginebra, Suiza. **2013**, pp. 10-39.

Rosendorff, C., Lackland, D., Allison, M., Aronow, W., Black, H., Blumenthal, R., Cannon, C., De Lemos, J., Elliott, W., Findeiss, L., Gersh, B., Gore, J., Levy, D., Long, J., O'Connor, C., O'Gara, P., Olugbenga, O., Oparil, S. y White, W. Treatment of hypertension in patients with coronary artery disease. *J Am Soc Hypertens*. **2015**, 9(6), 453-498.

Schirmer, A., Mentz, L. y Gonçalves, G. Chemotaxonomical characterization and chemical similarity of tribes/genera of the Solanoideae subfamily (Solanaceae) based on occurrence of withanolides. *Biochem Syst Ecol*. **2014**, 54, 40-47.

Seung-Jae, L., Hyun-Jae, J., Yesol, K., Hyun-Mee, O., Soyoung, L., Kyungsook, J., Young-Ho, K., Woo-Song, L., Seung-Woong, L., Mun-Chual, R. Inhibitory effects of IL-6-induced STAT3 activation of bio-active compounds derived from *Salvia plebeia* R.Br. *Process Biochem*. **2016**, 51(12), 2222 – 2229.

Simpson, M. G. Plant systematics. Elsevier. San Diego, California, USA. Second Edition. **2010**, pp. 416-417.

Siqueira, S., Dos Santos, V., Agra, M., Dariva, C., Siquiera, J. y Vieira, M. Biological activities of *Solanum paludosum* Moric. Extracts obtained by maceration and supercritical fluid extraction. *J Supercrit Fluids*. **2011**, 58, 391-397.

Sonar, V., Corona, A., Distinto, S., Maccioni, E., Meleddu, R., Fois, B., Floris, C., Malpure, N., Alcaro, S., Tramontano, E. y Cottiglia, F. Natural product-inspired esters and amides of ferulic and caffeic acid as dual inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase. *Eur J Med Chem*. **2017**, Manuscrito aceptado. DOI: 10.1016/j.ejmech.2017.02.054

Ting, H., Xiao-Wei, H., Jian-Guo, J. Functional analyses on antioxidant, anti-inflammatory, and antiproliferative effects of extracts and compounds from *Ilex latifolia* Thunb., a Chinese bitter tea. *J Agr Food Chem*. **2014**, 62(34), 8608 – 8615.

Vaghasiya, Y., Dave, R. y Chanda, S. Phytochemical Analysis of Some Medicinal Plants from Western Region of India. *J Med Plants*. **2011**, 5, 567-576.

Vargas, G., Valencia, C. y Castañeda, C. Estimación de la carga de enfermedad por hipertensión arterial en Colombia 2010-2014. Informe técnico: Carga de enfermedad por enfermedades crónicas no transmisibles y discapacidad en Colombia, V edición. Observatorio nacional de salud ONS. Bogotá D.C., Colombia. **2015**, Capítulo 5, pp. 100-107.

Vieira, G. M., Quintino da Rocha, C., Rodrigues, T., Hiruma-Lima, C. A. y Vilegas, W. New steroidal saponins and antiulcer activity from *Solanum paniculatum* L. *Food Chem*. **2015**, 186, 160-167.

Woodland, D. W. Contemporary plant systematics. Andrews University press. Berrien Springs, Michigan, USA. Fourth edition. **2009**, pp. 446.