

Efecto del extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Müll. Arg., en la disfunción eréctil inducida en ratas

Effect of methanol extract of *Jatropha macrantha* Müll. Arg. in rat erectile dysfunction

Aldo Tinco¹, Jorge Arroyo², Pablo Bonilla³

¹ Laboratorio de Farmacología, Facultad de Medicina- Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú

² Laboratorio de Farmacología, Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho, Perú.

³ Laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica-Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

Resumen

Objetivos: Determinar el efecto del extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Müll. Arg. 'huanarpo macho' en la disfunción eréctil inducida en ratas. **Diseño:** Experimental. **Institución:** Laboratorio de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú; Laboratorio de Farmacia, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho, Perú. **Material biológico:** Extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Müll Arg. 'huanarpo macho'; ratas wistar de 300±50 g. **Intervenciones:** La obtención de la muestra se realizó en la Provincia de Vilcas Huamán – Ayacucho. Se evaluó el comportamiento sexual y la concentración de óxido nítrico y el efecto vasorelajante en el cuerpo cavernoso aislado de pene de ratas, siendo los grupos de estudio: grupo 1 agua 10 mL/kg; grupo 2 sildenafil 5 mg/kg; grupos 3, 4 y 5 extracto metanólico 100, 200 y 300 mg/kg. Se aisló órganos en los grupos de 50, 100 y 300 ug/mL de extracto, L- arginina 300 uM, acetilcolina 30uM, epinefrina u/mL y sildenafil (3,2 × 10⁻⁵ mg/mL). **Principales medidas de resultados:** Flavonoides aislados, comportamiento sexual de ratas, niveles plasmáticos de óxido nítrico y relajación del músculo cavernoso. **Resultados:** Por cromatografía se encontró estructuras tipo flavonas, y mediante espectroscopia UV y reacciones de desplazamiento se identificó 6-hidroxi-4',5,7-trimetoxi flavona, 4',7-dihidroxi-5,6-dimetoxiflavona, 7-hidroxi-3',4',5',5,8-pentametoxiflavona, 4',7-dihidroxi-3',5,6-trimetoxiflavona, DL50 1357 mg/kg. El comportamiento sexual fue dosis dependiente; la administración de 300 mg/kg de la planta por vía oral incrementó la frecuencia de monta en 75% y elevó los niveles de óxido nítrico en 85%, en tanto que la dosis de 200 mg/kg lo hizo en 71,1% y 32,4%, respectivamente (p<0,05). **Conclusiones:** En ratas con disfunción eréctil inducida, el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Müll Arg. 'huanarpo macho' tuvo efecto modulador vasorelajante, con elevación de los niveles de óxido nítrico.

Palabras clave: *Jatropha macrantha* Müll Arg. 'huanarpo macho', comportamiento sexual, óxido nítrico, órgano aislado, disfunción eréctil.

Abstract

Objectives: To determine the effect of *Jatropha macrantha* Müll. Arg 'huanarpo macho' methanol extract in rats with induced erectile dysfunction. **Design:** Experimental. **Setting:** Pharmacology Laboratory, Faculty of Medicine, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Peru; Pharmacy Laboratory, Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga, Ayacucho, Peru. **Biological material:** Plant collected from Ayacucho, wistar male rats 300±50 g. **Interventions:** Plant collection was done in Vilcas Huaman Province - Ayacucho. Sexual behavior, nitric oxide concentration and vasorelaxant effect were determined in isolated rats penis corpus cavernosum distributed in the following groups: group 1 water 10 mL/kg, group 2 sildenafil 5 mg/kg, groups 3, 4 and 5 respectively methanol extract 100, 200 and 300 mg/kg. Organs were isolated in groups receiving 50, 100 and 300 ug/mL of extract, L-arginine 300 uM, 30 uM acetylcholine, epinephrine u/mL and sildenafil (3,2 × 10⁻⁵ mg/mL). **Main outcome measures:** Flavonoids isolated, sexual behavior of rats, nitric oxide plasma levels, and cavernous smooth muscle relaxation. **Results:** By chromatography flavones-like structures were revealed, and by UV spectroscopy and displacement reactions 6-hydroxy-4',5,7-trimethoxy-flavone, 4',7-dihydroxy-5,6-dimethoxy-flavone, 7-hydroxy-3',4',5',5,8-pentamethoxyflavone, 4',7-dihydroxy-3',5,6-trimethoxy-flavone, and LD50 1357 mg/kg were identified. Sexual behavior was dose-dependent; oral administration of 300 mg/kg of plant increased frequency of mounts in 75% and raised levels of nitric oxide 85%, while 200 mg/kg dose, mounts were respectively 71.1% and 32.4% (p < 0.05). **Conclusions:** *Jatropha macrantha* Müll Arg 'huanarpo macho' methanolic extract had vasorelaxant modulating effect in rats with induced erectile dysfunction with nitric oxide levels increase.

Key words: *Jatropha macrantha* Müll Arg. 'huanarpo macho', sexual behavior, nitric oxide, isolated organ, erectile dysfunction.

INTRODUCCIÓN

La especie humana posee cualidades que permiten tener sensaciones y satisfacciones que derivan de la relación sexual, así como de sus consecuencias reproductivas ⁽¹⁾. En estudios realizados en Estados Unidos se estima que este problema ocurre hasta en 52% de los hombres de 40 a 70 años ⁽²⁾.

La disfunción eréctil es causada por una alteración de la relajación del músculo liso corporal. Esta alteración puede ser causada, en parte, por la síntesis insuficiente de óxido nítrico (NO) en el 'nervio del pene', como consecuencia de una pérdida de terminaciones nerviosas del cuerpo cavernoso nitrérgicas. El óxido nítrico es un potente vasodilatador y puede inhibir la agregación plaquetaria ⁽³⁾ y regular la neurotransmisión, en la defensa del sistema inmune natural y la erección peneana ^(3,4). El óxido nítrico se sintetiza a partir de L-arginina, ejerciendo funciones también inmunológicas y cardiovasculares, relacionadas con señales de transmisión intracelulares, transcelulares y sobre moléculas citotóxicas, sin precedentes en la biología ⁽⁵⁾.

Es a partir de la conquista española que se ha podido tener información sobre los usos de plantas medicinales para mejorar el deseo sexual. Desde el siglo XVII se conoce, por los relatos del jesuita español Bernabé Cobo en su libro Historia del Nuevo Mundo, el efecto de la maca sobre la fertilidad. Estudios experimentales han mostrado en humanos y animales que la maca combinada con huanarpo macho puede tener un efecto favorable en la mejora del deseo sexual ^(6,7). Otra planta peruana usada es la ña de gato que, combinada con 'chuchuhuasi' o 'ayahuasca', es usado por algunos grupos étnicos como antiartrítico y afrodisiaco ⁽⁸⁾.

En este sentido, se hizo el presente trabajo de *Jatropha macrantha* 'huanarpo macho', planta nativa y originaria del Perú, utilizada por nuestros antepasados para mejorar la disfunción sexual eréctil, planteándose los siguientes

objetivos: 1) determinar la naturaleza química de los extractos, utilizando técnicas cromatográficas; 2) conocer el efecto sobre el comportamiento sexual del extracto metanólico de *Jatropha macrantha* huanarpo macho en ratas inducidas con disfunción eréctil inducida; 3) evaluar el efecto vasorrelajante y los niveles plasmáticos de óxido nítrico en ratas con disfunción eréctil que recibieran el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* 'huanarpo macho'; y, 4) determinar la dosis letal 50 (DL50), por el método de dosis límite.

MÉTODOS

El presente trabajo de investigación se realizó en los Laboratorios de Farmacología de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga y en el laboratorio de Farmacología de la Facultad de Medicina Humana y Química Orgánica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú, durante los meses de junio a diciembre de 2009.

Se efectuó un estudio de tipo experimental, en 200 ratas albinas cepa wistar (machos y hembras) de 300 ± 50 g y 80 ratones albinos raza *muss musculus* de 25 ± 5 g de peso, procedentes del Bioterio del Instituto Nacional de Salud del Ministerio de Salud. Se les mantuvo en un ambiente a temperatura de 21°C, con dieta y agua a libertad.

La planta *Jatropha macrantha* Müll Arg. 'huanarpo macho', hojas y tallos, fue recolectada en el valle del Río Pampas, distrito y provincia de Vilcas Huamán, región de Ayacucho. La identificación botánica se realizó en el *Herbarium Huamangensis* de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga.

Las hojas y los tallos molidos fueron macerados por 14 días, con dos litros y medio de metanol. Se procedió a la filtración con un sistema de vacío, utilizando papel whatman. Para la concen-

tración se usó un rotavapor con sistema de vacío, a 30 °C. Finalmente, el solvente fue evaporado en estufa a 40°C.

En el estudio fitoquímico, se hizo una extracción continua preliminar, para identificar los metabolitos secundarios ⁽⁹⁾, en cromatografía de capa fina (silicagel G₂₅₄), por comparación de la fracción de flavonoides ⁽⁸⁾. En relación al tamizaje fitoquímico, se tomó muestras de 5 mg de extracto metanólico y se les aplicó reactivos de identificación (tabla 1), reacción de color y precipitación. Se identificó los flavonoides con las reacciones de Shinoda, con hidróxido de sodio (NaOH) al 40%, ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado y cloruro férrico (FeCl₃) al 1% en etanol. Asimismo, se sometió el extracto metanólico a ensayos cromatográficos en capa fina unidimensional ascendente, utilizando como fase fija silicagel G₆₀ (Merck) y como fase móvil diclorometano-metanol, en la proporción de 3:1, así como el sistema BAW (n-butanol, ácido acético y agua, fase superior) en la proporción 4:1:5, para la identificación y posterior separación de flavonas ⁽¹⁰⁾.

Para la determinación del efecto sobre el comportamiento sexual, se trabajó con 100 ratas (machos y hembras) saludables y seleccionando a las ratas adultas con experiencia sexual, peso de 300 ± 50 g. Se les dividió en cinco grupos de 10 animales cada uno y se les mantuvo en jaulas separadas durante el experimento. El primer grupo blanco recibió solución salina fisiológica, el segundo grupo estándar sildenafil 5 mg/kg y, finalmente, el tercer, cuarto y quinto grupos, concentraciones de 100, 200 y 300 mg/kg del extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Müll Arg. 'huanarpo macho'.

Para la inducción de la disfunción eréctil, se administró por vía oral a las ratas macho 40 mg/kg de L-NAME y fueron expuestos a una luz tenue (tubo fluorescente de 1 w en un laboratorio de 14' x 14') durante 5 días antes del experimento, según el método de comportamiento sexual ⁽¹¹⁾.

Las ratas hembras fueron expuestas a inducción de celo con la administración secuencial del benzoato de estradiol (10 µg/100 g de peso corporal) y progesterona (0,5 mg/100 g de peso corporal), administrados por vía subcutánea 48 horas y 4 horas, respectivamente, antes de juntarlas con los machos para observar el comportamiento sexual. La receptividad de las hembras fue confirmada antes de la prueba por acicalamiento constante a las ratas machos, seleccionando así a las hembras más receptivas.

El apareamiento se realizó a las 20:00 horas, en el mismo laboratorio y bajo luz de la misma intensidad. Los animales fueron distribuidos aleatoriamente. Un grupo recibió el solvente (agua destilada), a 10 mL/kg; al segundo grupo se le suministró sildenafil 5 mg/kg; en tanto que al tercer, cuarto y quinto grupos se les administró por vía oral el extracto metanólico en dosis de 100, 200 y 300 mg/kg, respectivamente ⁽¹⁰⁾.

La determinación de los niveles de óxido nítrico a nivel plasmático se realizó siguiendo el método de Griess ⁽¹²⁻¹⁴⁾, obteniendo muestras de sangre mediante punción cardiaca, las que fueron centrifugadas a 3 500 rpm, durante 15 minutos. Para la desproteinización, a 1,6 mL de plasma se le agregó 1,2 mL de agua destilada, 0,2 mL de hidróxido de sodio (NaOH) 1 molar (1M) y 0,2 mL de sulfato de zinc (ZnSO₄) al 30%. Se agitó durante un minuto por tres veces, obteniéndose una solución lechosa, y después se centrifugó a 3 500 rpm, durante 10 minutos. Para la reducción de nitratos, a 1 mL de plasma desproteinizado se agregó una alícuota de zinc metálico en polvo y se dejó reposar durante una hora y 45 minutos, agitando el tubo cada 30 minutos; pasado este tiempo, se centrifugó a 3 500 rpm, durante 10 minutos, y el sobrenadante fue trasvasado para la reacción de Griess. Se leyó en el espectrofotómetro, a 550 nm, utilizando un estándar de nitritos; los datos fueron expresados en umol de NO/mL.

Para la determinación del efecto vasorrelajante ⁽¹⁵⁾, se aisló tiras del músculo liso del cuerpo cavernoso del pene (9 mm de longitud y 1 a 2 mm de grosor), siendo sumergidas en el líquido nutritivo Krebs, a pH 7,3 ⁽¹⁵⁾, en buffer fosfato salino, con oxigenación 95% y 5% de CO₂. La solución tuvo la siguiente composición: cloruro de sodio (NaCl) 7,01 g/L, cloruro de potasio (KCl) 0,34 g/L, fosfato ácido de potasio (KH₂PO₄) 0,1 g/L, bicarbonato de sodio (NaHCO₃) 1,99 g/L, cloruro de calcio (CaCl₂) 0,2 g/L, sulfato de magnesio (MgSO₄) 0,3 g/L y glucosa 1,8 g/L. Se repitió las operaciones utilizando las fracciones del huanarpo macho y como control positivo el sildenafil (3,2 × 10⁻⁵ mg/mL) ⁽¹⁵⁾; los datos fueron expresados en mm de relajación por tratamiento.

El estudio de toxicidad de la muestra por el método de dosis límite ⁽¹⁶⁾ se realizó mediante el ensayo de la DL50, para lo cual se empleó 80 ratones albinos machos. Se formó grupos de 10 animales cada uno; un grupo fue el control,

que recibió el solvente que resuspendió al extracto; a los otros grupos se les administró dosis crecientes del extracto por vía oral, hasta 2 000 mg/kg; se registró el nivel de dosis y el número de muertes para, mediante la aplicación del método matemático de Probits, llegar a determinar la dosis letal 50.

Se presenta los resultados en tablas y gráficos; los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza y a la prueba de Tukey, para comprobar las diferencias entre las medias, a un 95% de confianza. Para el análisis del comportamiento sexual, se midió los niveles plasmáticos de óxido nítrico y la vasorrelajación del cuerpo cavernoso del pene de rata, discerniendo su eficacia para cada estudio. También, se observó la variable dependiente de decesos. El cálculo de la dosis letal DL50 se realizó por el método estadístico de los Probits ⁽¹⁶⁾, teniendo en cuenta las concentraciones administradas, para luego realizar la bioactividad y la clasificación toxicológica del extracto metanólico de huanarpo macho.

Tabla 1. Tamizaje fitoquímico del extracto metanólico de las hojas y tallos de *Jatropha macrantha* Mull. Arg. 'huanarpo macho'. Los ensayos empleados son descritos por Miranda, 1996 ⁽⁹⁾.

Metabolitos secundarios	Resultados	Observaciones
Fenoles y taninos • Ensayo de cloruro férrico	(+)	Ligera coloración verde azulado
Lactonas y cumarinas • Ensayo de Baljet	(+ + +)	Coloración rojo vino
Glicósidos cardenólidos • Ensayo de Kedde	(+)	Coloración violeta
Terpenos • Ensayo de Lieberman	(+ + +)	Coloración rosada
Flavonoides • Ensayo de Shinoda	(+ + +)	Coloración amarillo rojiza
Alcaloides • Ensayo de Mayer	(+)	Formación de ligero precipitado de color anaranjado
Saponinas • Ensayo de espuma	(+ +)	Si hay formación de espuma y perdura en el tiempo
Aminoácidos libres • Ensayo de ninhidrina	(+ + +)	Coloración violeta
Ensayo de resinas	(-)	No hay cambio de color
Catequinas • Ensayo de catequinas	(+ + +)	Coloración verde turquesa al espectro ultravioleta

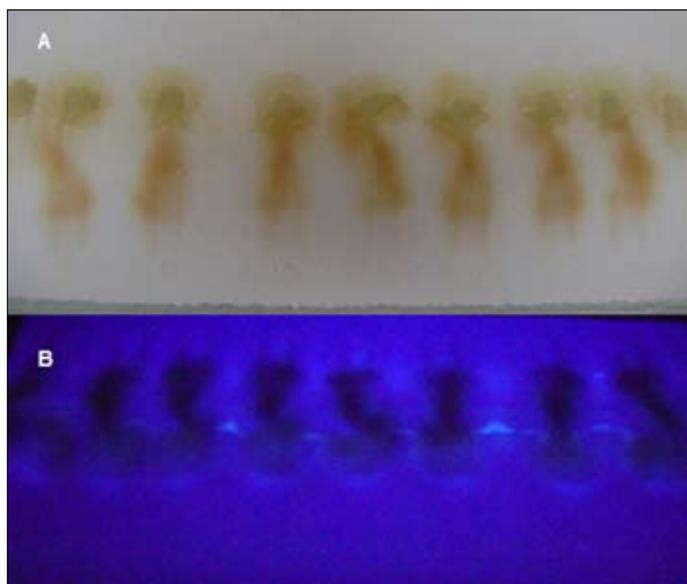


Figura 1. Componentes de *Jatropa macrantha* Mull Arg 'huanarpo macho'; flavonoides. A) Revelado visible a luz natural (recorrido sin reveladores). B) Revelado con luz ultravioleta (UV) a 366 nm (con revelador).

Con relación a las consideraciones éticas, y en cumplimiento a lo establecido en la experimentación con animales, se les trató con cuidado, con el fin de evitarles dolor y angustia y, para sacrificarlos, se aplicó la eutanasia, haciendo uso de pentobarbital, en dosis de 100 mg/kg^(17,18).

RESULTADOS

El extracto obtenido fue una masa pegajosa de color marrón rojizo, con sabor amargo, que presentó rendimiento de 10% (10 g de peso de extracto bruto por cada 100 g de macerado de planta, de la cual se obtuvo el extracto metanólico). El tamizaje fitoquímico del extracto metanólico de huanarpo presentó gran cantidad de lactonas, cumarinas, terpenos, flavonoides, aminoácidos libres y catequinas, seguido por saponinas (tabla 1).

La presencia de flavonoides en el extracto metanólico del huanarpo macho fue detectada con luz monocromática UV de 254 y 366 nm. Esto se comprobó por la presencia de manchas definidas de color naranja ladrillo (figuras 1A y

B), al ser reveladas con cloruro férrico y ácido sulfúrico. Es necesario resaltar que la fluorescencia de color celeste, verdosa, rojiza, marrón y amarilla se intensificó cuando fueron revelados con vapores de amoníaco y con UV de 366 nm. El tiempo de recorrido del extracto fue de 4 horas y media.

Las estructuras químicas mostradas en la figura 2 fueron obtenidas por espectrofotometría de las fracciones del extracto metanólico de *Jatropa macrantha* Müll arg 'huanarpo macho'.

La mejora de la función eréctil se observó al incrementarse la frecuencia de monta (figura 3). Los resultados para el extracto metanólico de *Jatropa macrantha* 'huanarpo macho' fueron $10,1 \pm 0,1$, $18,8 \pm 0,2$ y $23,1 \pm 0,1$ montas, a concentraciones de 100, 200 y 300 mg/kg del extracto, respectivamente, comparados con sildenafil, el que expresó hasta $24,0 \pm 0,5$ montas. La frecuencia de intromisiones también aumentó de manera dosis dependiente ($8,8 \pm 0,2$; $12,2 \pm 0,2$ y $13,0 \pm 0,4$), a concentraciones de 100, 200 y 300 mg/kg del extracto metanólico, respectivamente; en tanto que con sildenafil fue hasta $13,6 \pm 0,2$ intromisiones (figura 4). En la figura 5 se observa que la frecuencia de eyaculaciones también siguió la secuencia anterior ($33,8 \pm 0,0$; $30,1 \pm 0,0$ y $28,4 \pm 0,1$), a concentraciones de 100, 200 y 300 mg/kg, respectivamente; en tanto que sildenafil lo fue hasta $29,8 \pm 0,2$ eyaculaciones.

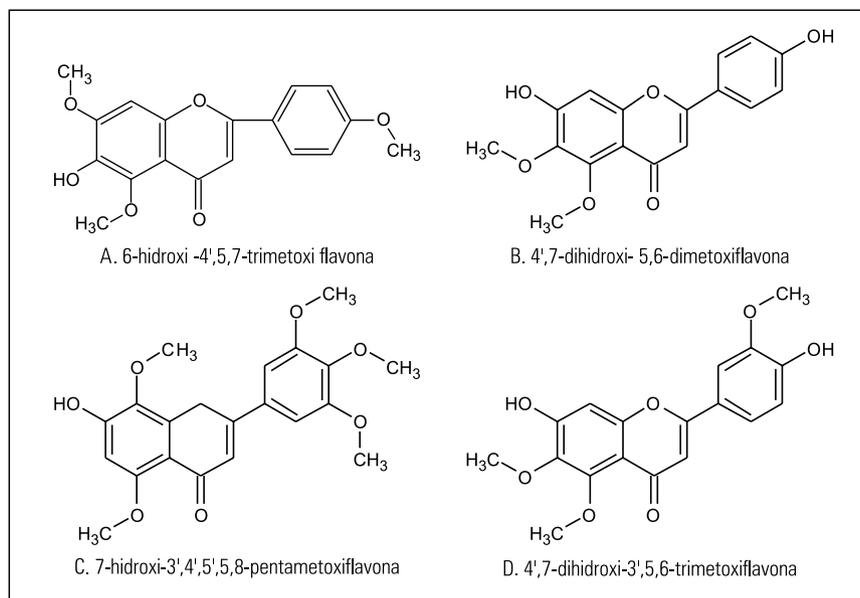


Figura 2. Estructuras químicas obtenidas por espectrofotometría al fraccionar el extracto metanólico de *Jatropa macrantha* Müll arg 'huanarpo macho'.

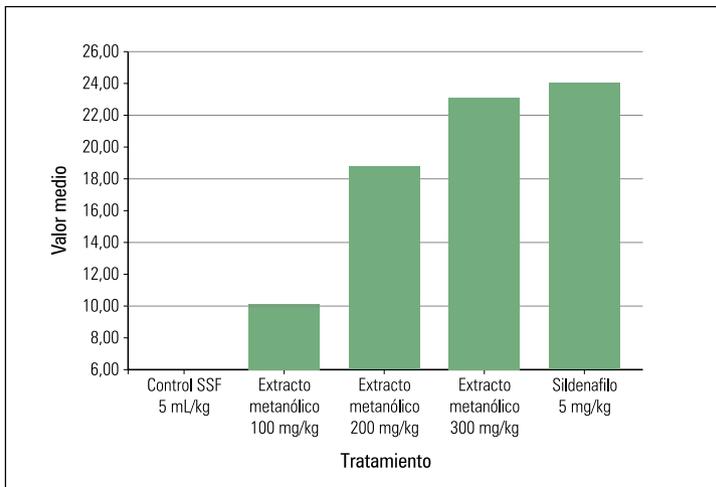


Figura 3. Frecuencia de monta al evaluar el efecto modulador de la erección al administrar el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Mull. Arg. 'huanarpo macho' en ratas con inducción de disfunción eréctil.

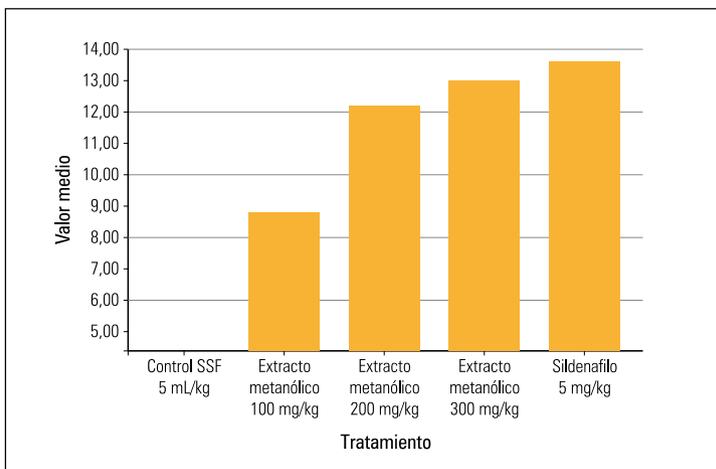


Figura 4. Frecuencia de intromisiones al evaluar el efecto modulador de la erección al administrar el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Mull. Arg. 'huanarpo macho' en ratas con inducción de disfunción eréctil.

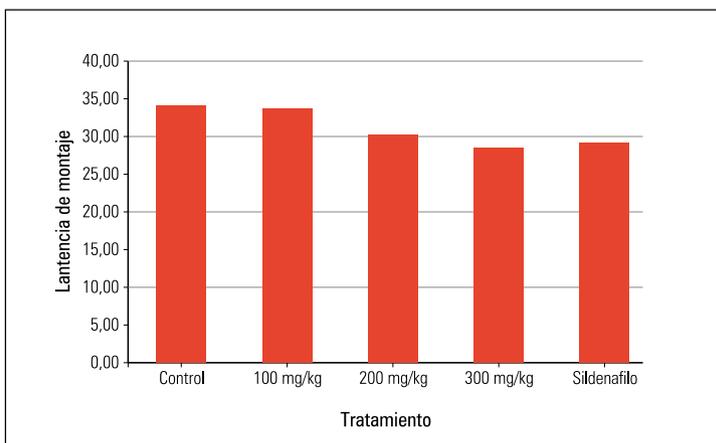


Figura 5. Frecuencia de eyaculaciones al evaluar el efecto modulador de la erección al administrar el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Mull. Arg. 'huanarpo macho' en ratas con inducción de disfunción eréctil.

Los niveles plasmáticos de óxido nítrico aumentaron según el incremento de administración del extracto metanólico, comparado con el sildenafil, como se muestra en la figura 6. El efecto vasodilatador in vitro del extracto en el cuerpo cavernoso del pene de rata fue dependiente de la concentración de extracto, con $p < 0,0$ (figura 7).

El estudio de toxicidad a dosis límite reveló una dosis letal 50 (DL50) de 1 357,0 mg/kg, con intervalos de confianza al 95% de 1 193,1 y 1 543,2 mg/kg (figura 8).

DISCUSIÓN

La presente investigación ha evaluado una planta nativa proveniente de la localidad del Consejo Menor de San Francisco de Pujas, ubicado en el valle del Río Pampas (2 100 a 2 400 msnm), distrito y provincia de Vilcas Huamán, región de Ayacucho, Perú, habiéndose demostrado el efecto estimulante de la erección con el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Mull Arg 'huanarpo macho', en la disfunción eréctil inducida en ratas. Taxonómicamente, la planta medicinal fue identificada como *Jatropha macrantha* Mull Arg 'huanarpo macho'. El estudio fitoquímico, mediante espectrofotometría UV visible, ha revelado los respectivos espectros de estructuras químicas que, al ser comparadas con lo publicado por Mabry y col, en 1970, y por análisis de los reactivos de desplazamiento, se encontró una flavona, según los picos comparados con estándares de flavonoides. Ello estaría justificando la presencia de la flavona, con diferentes estructuras que se diferencian solo por la posición de radicales OH y CH₃, como el 6-hidroxi-4',5,7-trimetoxi flavona (figura 2A), 4',7-dihidroxi-5,6-dimetoxiflavona (figura 2B), 7-hidroxi-3',4',5',5,8-pentametoxiflavona (figura 2C), 4',7-dihidroxi-3',5,6-trimetoxiflavona (figura 2D). Estas estructuras fueron elucidadas en base a lo encontrado en las reacciones de identificación de los metabolitos secundarios, que evidenció la presencia de los flavonoides, según el tamizaje fitoquímico

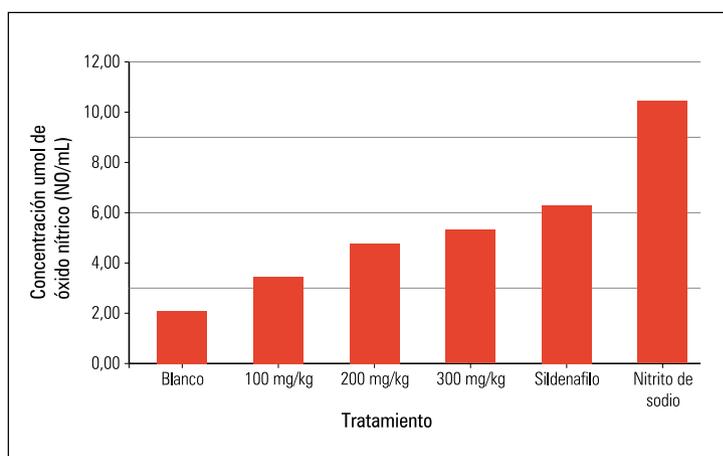


Figura 6. Efecto del extracto metanólico de hojas y tallos de *Jatropha macrantha* 'huanarpo macho' sobre los niveles plasmáticos de óxido nítrico en ratas con inducción de disfunción eréctil (incremento dosis dependiente de niveles de NO: $p < 0,05$)

preliminar (tabla 1). Otras investigaciones también muestran flavonoides elucidados, como la apigenina, vitexina, isovitexina, jatrolona A y B, presentes en otras plantas de esta familia, como la *Jatropha gossypifolia*. También, catequinas elucidadas por espectros de resonancia magnética nuclear (RMN), como la catequín-7-O-beta-glucopiranoside y proantocianidina B-3 de la *Jatropha macrantha*; alcaloides como el jatrofano y maitasina, a partir de *Jatropha macrohiza*; algunos diterpenos, como la jatrofona de la *Jatropha gossypifolia*. Juárez, en 1968, comunicó la presencia de alcaloides en *Jatropha macrantha* (19). Por lo tanto, se podría mencionar que *Jatropha* es fuente de alcaloides, catequinas, flavonoides, diterpenos, lignanos, triterpenos y péptidos cíclicos, con actividad farmacológica demostrada. *Jatropha gaumeri* posee al 2-epi-jatrogrossidiona y el 15-epi-4 E-jatrogrossidion, catequinas que también tienen actividad vasodilatadora y son usadas en el manejo de la presión arterial y enfermedades cardíacas (20,21). El efecto experimental que muestran las flavonas de *Dendranthema morifolium*, que inducen una relajación independiente de endotelio en anillos de aorta de rata, los mecanismos pueden incluir la activación de los receptores beta adrenérgicos, la reducción de Ca, lo que hace que haya un flujo de voltaje a través de los canales dependientes de receptores e inhibi-

ción de la liberación de Ca intracelular en las células vasculares del músculo liso (22), lo que confirma la participación del NO como un importante mediador en el mecanismo de vasorrelajación en un modelo de anillos aórticos, donde dicha vasorrelajación es inhibida cuando los anillos aórticos son pretratados con N ω -nitro-L-arginina metil éster (L-NAME) (23).

En la figura 3 se observa que la frecuencia de monta se incrementó por la estimulación del deseo sexual con el aumento de la dosis y la presencia

de flavonoides (tabla 1). Las flavonas encontradas (figura 2 A, B, C y D) podrían tener efecto vasorrelajante sobre el cuerpo cavernoso del pene de rata, teniendo esto una relación directa. Los niveles de óxido nítrico se incrementaron por la inhibición de la fosfodiesterasa (PDE) por flavonoides, como la presencia de un núcleo flavona, flavanol o flavilio. Por lo anteriormente expuesto, las PDE son un blanco celular muy importante, y dado que algunos flavonoides aislados y purificados de plantas muestran una inhibición selectiva, estos podrían servir como agentes vasodilatadores para una alternativa de tratamiento en padecimientos tales como angina de pecho, hipertensión e, inclusive, disfunción eréctil (24). El mecanismo es similar al del sildenafil, que es inhibidor de la 5-fosfodiesterasa, con el consecuente mantenimiento de la actividad del guadenosín monofosfato cíclico (GMCc). Asimismo, se refiere que un mecanismo de relajación del cuerpo cavernoso del pene podría ser por aumento de adenosina monofosfato cíclico (AMPC), por la actividad sobre la fosfodiesterasa (25).

Cuando se administró los extractos de huanarpo a las dosis de 100, 200 y 300 mg/kg, hubo incremento creciente en la actividad sobre el comportamien-

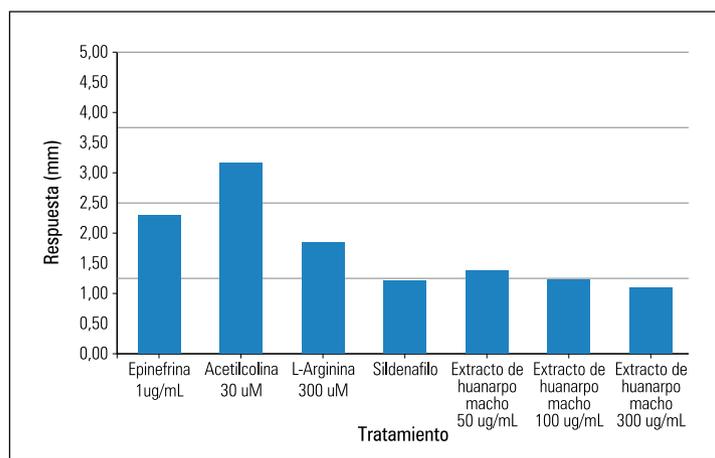


Figura 7. Efecto del extracto metanólico de hojas y tallos de *Jatropha macrantha* 'huanarpo macho' sobre el órgano aislado de cuerpo cavernoso de rata (relajación del músculo liso del cuerpo cavernoso, dependiente de la concentración de extracto: $p < 0,05$).

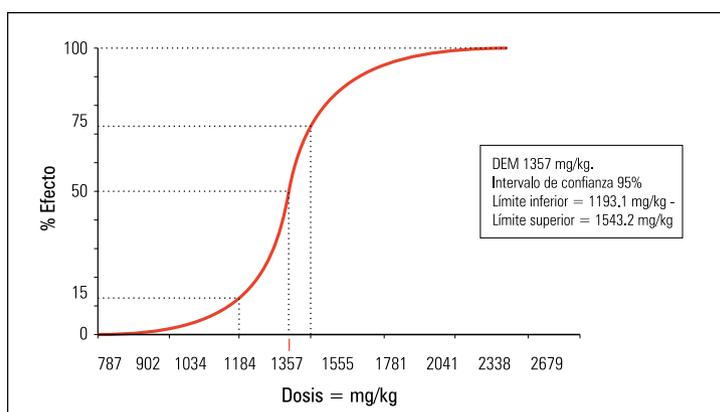


Figura 8. Dosis letal del extracto metanólico *Jatropha macrantha* Mull Arg 'huanarpo macho' en ratones, a las 72 horas de administración por vía oral. DEM 1 357 mg/kg, intervalo de confianza al 95%: 1 193,1 mg/kg a 1 543,2 mg/kg.

to sexual, no alcanzando los niveles obtenidos frente al estándar sildenafil. La frecuencia de intromisiones reveló estar en relación a la concentración (figura 4); es decir, a mayor dosis aumentó la frecuencia de monta e intromisiones; por tanto, existió un aumento de la libido y potencia sexual. Mientras que, en la figura 5, al comparar la frecuencia y latencia eyaculatoria del sildenafil con la del extracto, se observa que el extracto lo aumenta al usar menor dosis entre 100, 200 y 300 mg/kg; el intervalo entre la primera intromisión y la eyaculación es caracterizado por más empuje pélvico y desmonte lento, seguido por un período de inactividad corta. La frecuencia de monta es un parámetro que mide el deseo sexual, y la de intromisión mide la potencia sexual, lográndose estimular el deseo sexual en mayor porcentaje, indicando que se ha logrado mantener la erección por mayor tiempo⁽¹¹⁾. Por ello, se expresaría que el extracto ha tenido un efecto positivo sobre el comportamiento sexual en las ratas con disfunción eréctil. La latencia post eyaculatoria (LPE) es el intervalo de tiempo entre el término de la eyaculación y el reinicio de una nueva sesión de penetración⁽¹⁵⁾. En la presente evaluación se alcanzó una relación inversa con la concentración de extracto utilizada; es decir, a mayor dosis, disminuyó la LPE.

En la figura 6 se observa el incremento de los niveles plasmáticos de óxido nítrico cuando se administró oralmente el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* 'huanarpo macho' a ratas con inducción de disfunción eréctil por NG-nitro-L-arginina-metil-éster (L-NAME). El aumento de NO posiblemente se explica por los flavonoides presentes en el extracto (tabla 1), dado que los flavonoides aumentan el NO⁽²⁶⁾, resultando el extracto mejor que el sildenafil ($p < 0,05$). Se indica que el NO produce dilatación en las arterias, mejorando la relación ventilación/perfusión y también el suministro de oxígeno a los tejidos y el equilibrio homeostático, aumentando la permeabilidad vascular⁽⁴⁾.

En la figura 7 se observa relajación del cuerpo cavernoso del pene de rata por acción del sildenafil, inhibidor de la 5-fosfodiesterasa y el extracto metanólico de huanarpo, mientras que con la acetilcolina y adrenalina hubo respuesta contráctil, evidencia de la disfunción eréctil, relacionada con un flujo arterial bajo y la contracción de la musculatura trabecular, con escaso volumen sanguíneo en los sinusoides de los cuerpos cavernosos del pene⁽²⁷⁾. Experimentalmente, esto se debe a que el L-NAME inhibe la óxido nítrico sintetasa, reduciendo así los niveles plasmáticos de NO^(28, 29). A nivel molecular,

Rho-quinasa inhibe la miocina fosfatasa de cadena ligera (MLCP), a través de la fosforilación, activando la miocina de cadena ligera (MLC) para inducir la contracción del músculo liso.

Existen varias modalidades de tratamiento de la disfunción eréctil: 1) Tratamiento oral con inhibidores de la 5 fosfodiesterasa, como el sildenafil, de mayor aceptación, menor abandono de tratamiento, relativa eficacia, contraindicado en pacientes con disfunción cardiovascular, y sus costos; 2) La terapia de vacío es otra modalidad de tratamiento mediante la aplicación directa en el pene de un cilindro que lo contiene y provoca un vacío que produce la erección por atrapamiento de sangre en el pene, mediante la succión que ejerce sobre él y la instalación de un anillo elástico en la base de este; la erección demora 2 a 3 minutos en producirse y no debe mantenerse por más de 30 minutos; su ventaja es que es no invasivo y es efectivo en las diferentes etiologías de disfunción eréctil; las desventajas son que requiere de destreza manual para su instalación y uso, suele ser algo engorroso para algunos pacientes, produce sensación de pene frío, puede producir magulladuras y bloqueo de la eyaculación; está contraindicado en pacientes con terapia anticoagulante y trastornos de la coagulación; 3) Otras estrategias del tratamiento mayores para el trastorno eréctil incluyen inyección intracavernosa de drogas, como la prostaglandina E1, la papaverina, la fentolamina, la terapia transuretral, cirugía⁽²⁷⁾.

El estudio de seguridad por el método de dosis límite demostró la relación dosis-dependiente de toxicidad (figura 8), donde las dosis menores a 1 500 mg/kg de peso corporal presentaron signos de toxicidad, sin causar mortalidad los primeros tres días, luego de lo cual las ratas empiezan a morir de manera progresiva. Los signos de toxicidad son más notorios y causan mortalidad después de las 72 horas, llegándose a determinar una DL50 de 1 357 mg/kg con un intervalo de confianza al 95% entre 1 193,1 y 1 543,2 mg/kg, posiblemente

por el exceso de cumarinas, saponinas, entre otros metabolitos secundarios detectados en el extracto de huanarpo (tabla 1).

Al haberse verificado el efecto modulador sobre la disfunción eréctil en ratas cuando se utiliza el extracto metanólico de huanarpo macho, se recomienda realizar estudios que permitan establecer los niveles de PDE-5, bradiquinina, prostaciclina, entre otros marcadores moleculares relacionados con la vasodilatación, de tal manera que ayuden a una mejor comprensión del mecanismo de acción; ampliar estudios de seguridad que permitan comprender los eventos tóxicos encontrados en el presente estudio, cuando se usó dosis casi diez veces la dosis efectiva media en ratones; saber si el producto induce algún grado de genotoxicidad, que conlleve a garantizar la seguridad en su posible uso como coadyuvante para mejorar la vida sexual del varón.

En conclusión, el estudio fitoquímico del extracto metanólico indica la presencia de metabolitos secundarios y componentes químicos -como 6-hidroxi-4', 5, 7-trimetoxi flavona, 4', 7-dihidroxi-5, 6-dimetoxiflavona, 7-hidroxi-3', 4', 5', 5, 8-pentametoxiflavona, 4', 7-dihidroxi-3', 5, 6-trimetoxiflavona, los que serían responsables del efecto vasorrelajante e incremento de los niveles de óxido nítrico demostrados en ratas expuestas a disfunción eréctil, con una dosis efectiva media de 157,1 mg/kg, y cuya dosis letal 50 (DL50) fue de 1 357 mg/kg, por vía oral, en ratones.

AGRADECIMIENTOS

Al Departamento Académico de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH, y al Departamento Académico de Ciencias dinámicas de la Facultad de Medicina de la UNMSM, por las facilidades brindadas para la realización del presente trabajo de investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- García G. Disfunción sexual masculina y estrés. Rev Cub Med Mil. 2005;34(1):24.
- Correa M. Los inhibidores de las fosfodiesterasas en el tratamiento de la disfunción sexual eréctil. Rev Cub Med Mil. 2010;39(3-4):225-64.
- McCall T, Boughton N, Palmer R, Whittle B, Moncada S. Synthesis of nitric oxide from L- arginine by neutrophils. release and interaction with superoxide anion. Biochem J. 1989;261(1):293-6.
- Moncada S, Palmer R, Higgs A. Nitric Oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. Pharmacol Rev. 1991;43(2):109-42;524-6.
- Knowles G, Moncada S. Nitric Oxide synthesis in mammals. Biochem J. 1994;298:249-58.
- Oshima M, Gu Y, Tsukada S. Effects of *Lepidium meyenii Walp* and *Jatropha macrantha* on blood levels of estradiol-17 β , progesterone, testosterone and the rate of embryo implantation in mice. J Vet Med Sci. 2003;65(10):1145-6.
- Gonzales F. Maca. De lo tradicional a la ciencia. Primera edición. Lima: Impresiones Gráficas 'Jhossette'. 2006:91-121.
- Lock de Ugaz. Investigación fitoquímica. Lima, Perú: Editorial Fondo Universidad Peruana Cayetano Heredia. 1994:54-154.
- Miranda M. Métodos de análisis de drogas y extractos. Instituto de Farmacia y Alimentos de la Universidad de la Habana, Cuba. 1996;(3:20-74.
- Mabry T, Markham K, Thomas M. The systematic Identification of flavonoids. New York: Springer - Verlag. 1970:15-25.
- Tajudin, Ahmad S, Latif A, Qasmi A. Effect of 50% ethanolic extract of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry. (clove) on sexual behavior of normal male rats. BMC Complement Altern Med. 2004;4:17.
- Yakubu M, Akanji M, Oladiji A. Male sexual dysfunction and methods used in assessing medicinal plants with aphrodisiac potentials. Pharmacognosy Rev. 2007;2(1):49 - 56.
- Yauri S, Aguilar E, Angulo P. Actividad del nitrito de sodio como donador de óxido nítrico en pollos de carne criados a 3800 msnm (Oroya). Tesis. Escuela de Farmacia y Bioquímica, UNSCH. 2005:1- 65.
- Basoglu M, Ahmet B, Ahmet K, Fatih A, Selçuk S. "Serum D(-) - Lactate and Nitric Oxide (NO) levels in acute intestinal ischemia". Faculty of Medicine, Atatürk University, Erzurum-Turkey Tr. J. of Medical Sciences". 1999(29): 37-40.
- Angulo J, Cuevas P, Fernandez A, Gabancho S, Allona A, Morales A, Moncada I. Activation and potentiation of the NO/cGMP pathway by NG -hydroxyl-L-arginine in rabbit corpus cavernosum under normoxic and hypoxic conditions and ageing. Br J Pharmacol. 2003;138:63-70.
- Cyted. Manual de Técnicas de Investigación. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Sub Programa X. Química Fina Farmacéutica. 1995:10-70.
- Morton DB, Griffiths PHM. Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental animals and a hypothesis for assessment. Vet Rec. 1985;116:431-6.
- American Veterinary Medical Association. Report of the AVMA panel of euthanasia, Jauma. February 1, 1986; vol 188, Nº 3.
- Juárez J. Contribución al estudio químico de los alcaloides de la especie *Jatropha macrantha* (huanarpo macho). Facultad de Farmacia y Bioquímica. Tesis, UNMSM. Lima. 1968:1-42.
- Can-Aké R, Rejón GE, May-Pat F, Peña LM, Peraza-Sánchez SR. Bioactive terpenoids from roots and leaves of *Jatropha gumeri*. Rev Soc Quim Méx. 2004;48:11-4.
- Benavides A, Montoro P, Bassarello C, Piacente S, Piza C. Catechin derivatives in *Jatropha macrantha* stems: characterisation and LC/ESI/MS/MS quali-quantitative analysis. J Pharm Biomed Anal. 2006;40(3):639-47.
- Jin HF, Shan QX, Jiang HD, Tu J, Bruce IC, Xia, Q. Vasorelaxant effect of total flavones from *Dendranthema morifolium* on rat thoracic aorta. Proceedings of the 25th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society Proceedings, Cancun, Mexico. 2003;1:305-7.
- Lorenz M, Wessler S, Follmann E, Michaelis W, Düsterhöft T, Baumann G, Stangl K, Stangl V. A constituent of green tea, epigallocatechin-3-gallate, activates endothelial nitric oxide synthase by a phosphatidylinositol-3-OH-kinase-, cAMP-dependent protein kinase-, and Akt-dependent pathway and leads to endothelial-dependent vasorelaxation. J Biol Chem. 2004;279(7); p 6190-5.
- Tenorio F, Del Valle L, Pastelín G. Los flavonoides y el sistema cardiovascular. ¿Pueden ser una alternativa terapéutica? Arch Cardiol Mex. 2006;76(4):33-45.
- Chen J, Liu J, Wang T, Xiao H, Yin C, Yang J. Effects of plant extract neferine on cyclic adenosin monophosphate and cyclic guanosine monophosphate levels in rabbits copus cavernosum in vitro. Asian J Androl. 2008;10(2):307-12.
- Grassi D, Aggio A, Onori L, Croce G, Tiberti S, Ferri C, et al. Tea, flavonoids, and nitric oxide-mediated vascular reactivity. J Nutr. 2008;138(8):1554S-1560S.
- Alvarez E. Disfunción eréctil. Disponible en: http://www.clinicascondes.com/area-academica/pdf/MED_20_2/11DISFUNCION.pdf. Obtenido el 30 junio 2011.
- Rojas A. Evaluación del efecto de extracto etanólico de *durvillaea antarctica*, sobre la presión arterial en ratas con hipertensión inducida con L-Name. Tesis Universidad Austral de Chile-2008(1):1 -35.
- Magée T, Ferrini M, Dávila H, Zeller C, Vernet D, Sun J, Lalani R, Burnett AL, Rajfer J, González-Cadavid NF. Protein inhibitor of nitric oxide synthase (NOS) and the n-methyl-d-aspartate receptor are expressed in the rat and mouse penile nerves and colocalize with penile neuronal NOS. Biol Reprod. 2003;68(2):478-88.

Trabajo recibido el 13 de enero de 2011 y aceptado para publicación el 26 de abril de 2011.

Fuentes de financiamiento: Propio.

Conflictos de intereses: Los autores expresan no tener ningún conflicto de interés.

Correspondencia:

Mg Q.F. Johnny Aldo Tinco Jayo.

Escuela de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho-Perú.

Dirección Av. Independencia s/n Ciudad Universitaria. Correo electrónico: aldotinco2@hotmail.com.

Tlf 066314491 - Cel 066966898090 - Rpm #396613.