



**UNIVERSIDAD DE TALCA**  
**INSTITUTO DE QUIMICA DE RECURSOS NATURALES**

**DOCTORADO EN CIENCIAS, MENCIÓN INVESTIGACIÓN  
Y DESARROLLO DE PRODUCTOS BIOACTIVOS**

# **Aislamiento e Identificación Biodirigida de Compuesto Antiplaquetario de *Solanum lycopersicum***

---

Dr(c). TM. EDUARDO FUENTES Q.

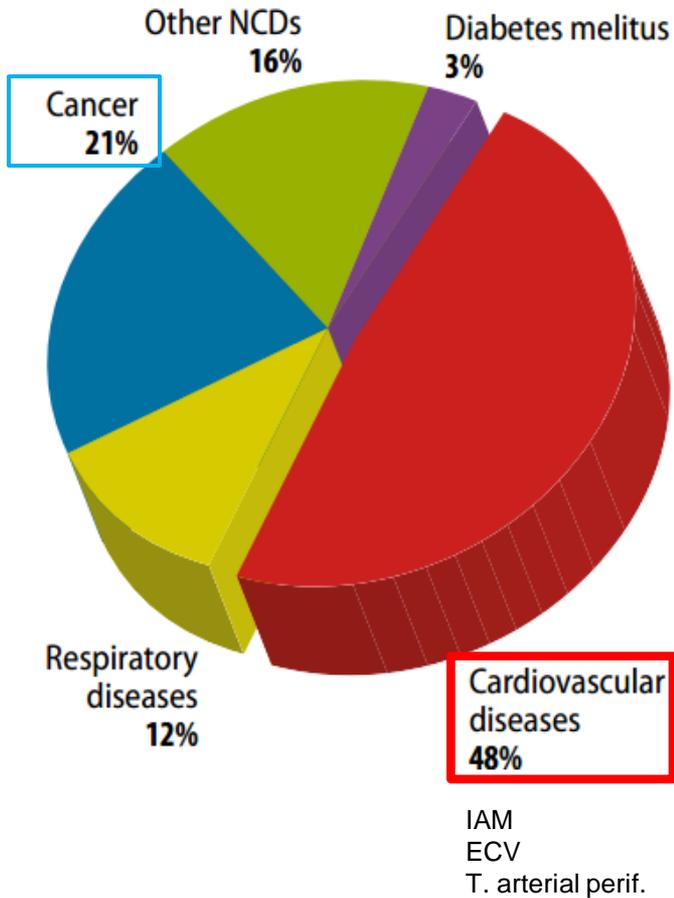
Alarcón M, Castro I, Astudillo L, Gutiérrez M, Caballero J, Palomo I.



**05 Octubre del 2012**

# ECV

## Distribución global de ECNT por causa de muerte



## Tasa de mortalidad Chile 1997-2003

Edad	Cerebrovasculares			
	Total	Hombres	Mujeres	H/M
30-39	1,2	0,6	0,6	1,1
40-49	3,8	2,0	1,9	1,1
50-59	8,4	4,9	3,5	1,4
60-69	16,4	9,8	6,6	1,5
70-79	30,0	16,0	14,0	1,1
80 y más	39,3	15,1	24,2	0,6
<b>Total</b>	<b>99,1</b>	48,4	50,7	1,0

Edad	Isquémicas del corazón			
	Total	Hombres	Mujeres	H/M
30-39	0,9	0,7	0,1	4,9
40-49	3,6	2,8	0,8	3,6
50-59	9,4	7,1	2,3	3,1
60-69	19,4	13,2	6,3	2,1
70-79	31,5	19,0	12,6	1,5
80 y más	39,1	16,5	22,6	0,7
<b>Total</b>	<b>103,9</b>	59,2	44,7	1,3

# PREVENCIÓN DE ECV

**Prevención Primaria**

**Prevención Secundaria**



FRUTAS Y HORTALIZAS

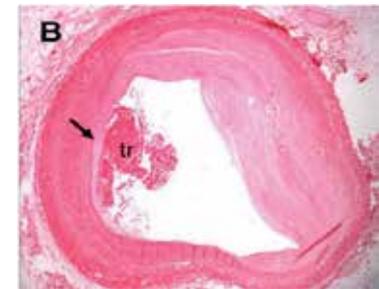
PRINCIPIOS BIOACTIVOS

**REDUCCIÓN ECV Y CANCER**

ANTIOXIDANTE

ANTIPROLIFERATIVA

**Inhibición de la Función  
Plaquetaria**



# Actividades Biológicas de *Solanum lycopersicum*

## Tomate



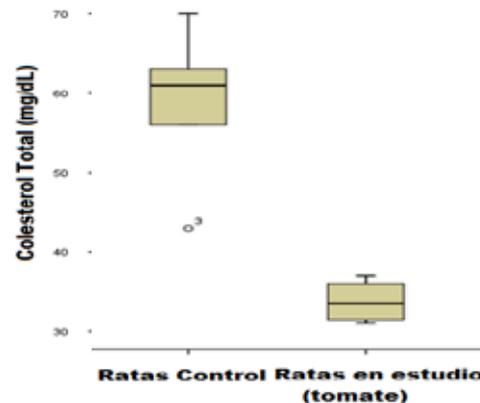
- Dicotiledónea, Solanáceas
- Producción y consumo
- Fuente

## Antioxidante

Porcentaje de decoloración de solución de DPPH para extractos metanólicos de hortalizas.

	1000 $\mu\text{g/ml}$	500 $\mu\text{g/ml}$	100 $\mu\text{g/ml}$
Tomate			
Racimo	78 (76-80)	50 (50-55)	19 (18-24)
Talquino	82 (72-85)	55 (50-55)	15 (13-18)

## Hipocolesterolémica



# Inhibición de la Agregación Plaquetaria por extr. acuosos y met. de FyH

Species and variety	ADP		Arachidonic acid	
	Aqueous	MeOH	Aqueous	MeOH
<b>Fruits</b>				
Apple ( <i>Malus pumila</i> Mill.)				
Granny Smith	0.8 (0.6–1.4)	12.2 (11.8–12.6)	0 (0.0–0.6)	3.7 (3.3–3.9)
Royal Gala	10.3 (9.5–11.8)	2.7 (2.4–3.1)	7.6 (7.5–8.6)	0 (0.0–0.9)
Scarlet	18.8 (16.7–19.0)	2.2 (2.1–3.0)	11.9 (11.5–12.4)	0.7 (0.5–1.1)
Grapefruit ( <i>Citrus paradisi</i> Macfad)	13.6 (13.4–14.5)	14.3 (14.0–15.0)	1.6 (1.0–2.2)	0 (0.0–0.5)
Plum ( <i>Prunus domestica</i> L. var. <i>Americana</i> , Marshall)	38.8 (35.8–38.9)	19.8 (19.3–20.1)	5.7 (5.6–6.6)	0.3 (0.1–0.4)
Raspberry ( <i>Rubus idaeus</i> L.)	0 (0.0–0.1)	9.4 (9.3–9.8)	18.4 (17.9–18.8)	8.6 (8.1–9.0)
Strawberry ( <i>Fragaria x ananassa</i> L. Duch.)	27.4 (26.8–29.4)	10.0 (9.3–10.7)	3.5 (3.4–3.7)	0 (0.0–0.4)
<b>Vegetables</b>				
Beans ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	N/D	13.0 (11.9–13.3)	N/D	63.6 (62.5–64.7)*
Beetroot ( <i>Beta vulgaris</i> L.)	N/D	10.4 (9.2–11.4)	N/D	0 (0.0–0.6)
Cabbage ( <i>Brassica oleracea</i> var. <i>Capitata</i> L)	N/D	8.4 (8.1–9.5)	N/D	0 (0.0–0.6)
Eggplant ( <i>Solanum melongena</i> L.)	N/D	7.4 (5.6–7.8)	N/D	0 (0.0–1.2)
Garlic ( <i>Allium sativum</i> L.)	N/D	25.2 (25.1–27.9)	N/D	0 (0.0–3.0)
<b>Melon (<i>Cucumis melo</i> L.)</b>				
Plátano type	34.8 (32.7–35.6)	39.4 (39.4–40.9)	5.9 (5.5–6.5)	0 (0.0–0.2)
Tuna type	34.1 (34.0–35.9)	41.7 (40.3–46.1)	9.0 (8.9–9.4)	1.3 (1.1–1.8)
<b>Onion (<i>Allium cepa</i> L.)</b>				
Valenciana	N/D	6.0 (5.0–7.1)	N/D	0 (0.0–0.5)
Pear melon ( <i>Solanum muricatum</i> Aiton.)	9.0 (8.9–10.3)	15.0 (13.7–18.2)	6.8 (6.6–6.9)	27.8 (25.6–28.3)
Scallion ( <i>Allium schoenoprasum</i> L.)	N/D	25.4 (25.3–29.5)	N/D	5.8 (5.5–6.5)
Spinach ( <i>Spinacea oleracea</i> L)	N/D	30.1 (30.0–38.1)	N/D	0 (0.0–1.3)
<b>Sweet pepper (<i>Capsicum anuum</i> L.)</b>				
Fiuco type	N/D	32.0 (30.7–33.3)	N/D	0.6 (0.4–1.0)
Sapphire	N/D	22.2 (21.9–24.5)	N/D	52.6 (51.7–52.9)
Tomato ( <i>Solanum lycopersicum</i> M.) 	25.4 (21.6–26.0)***	32.4 (27.6–42.4)***	0 (0–0.8)	0 (0–1.6)

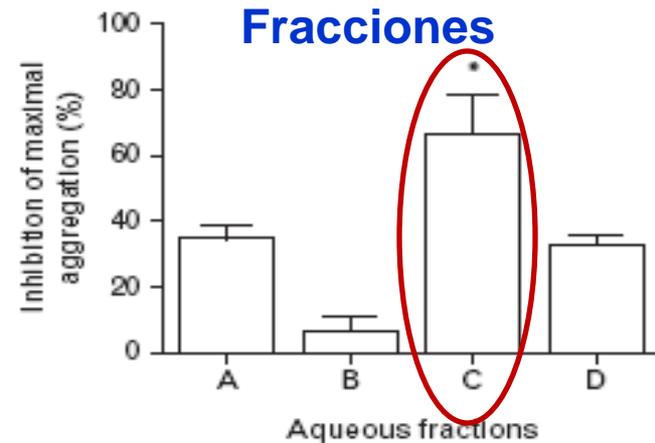
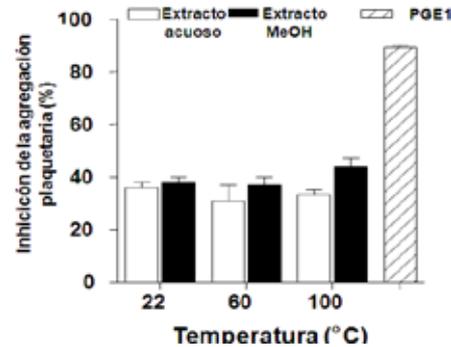
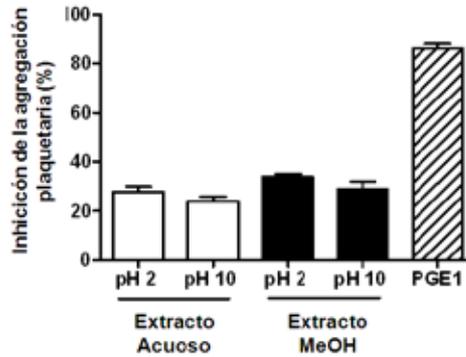
N/D, not determined. Results are expressed as median percentage inhibition of platelet aggregation, with respect to their negative controls. \*,  $P < 0.05$  vs. control, \*\*\* 0.001 vs. control.

**Antiplatelet, anticoagulant, and fibrinolytic activity *in vitro* of extracts from selected fruits and vegetables**

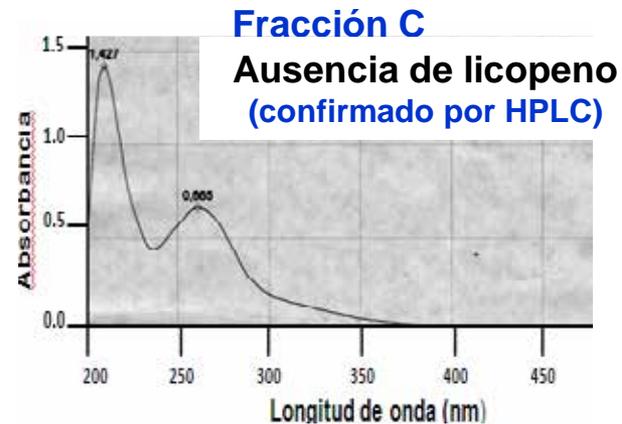
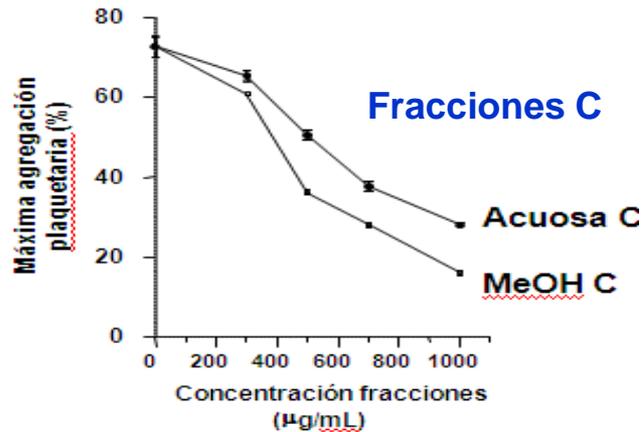
Bood Coagul Fibrinolysis. 2011;22(3):197-205.

Constanza Torres-Urrutia<sup>a</sup>, Luis Guzmán<sup>a</sup>, Guillermo Schmeda-Hirschmann<sup>b</sup>, Rodrigo Moore-Carrasco<sup>a</sup>, Marcelo Alarcón<sup>a</sup>, Luis Astudillo<sup>b</sup>, Margarita Gutierrez<sup>b</sup>, Gilda Carrasco<sup>c</sup>, José A. Yuri<sup>c</sup>, Eduardo Aranda<sup>d</sup> and Iván Palomo<sup>a</sup>

# Extractos y Fracciones de *S. lycopersicum* con Actividad Antiplaquetaria



Resisten cambios de pH y t°



**Fractions of aqueous and methanolic extracts from tomato (*Solanum lycopersicum* L.) present platelet antiaggregant activity**

Eduardo J. Fuentes<sup>a,b,d</sup>, Luis A. Astudillo<sup>b,d</sup>, Margarita I. Gutiérrez<sup>b,d</sup>, Samuel O. Contreras<sup>a</sup>, Luis O. Bustamante<sup>a</sup>, Pia I. Rubio<sup>a</sup>, Rodrigo Moore-Carrasco<sup>a,b</sup>, Marcelo A. Alarcón<sup>a,b</sup>, Jaime A. Fuentes<sup>a</sup>, Daniel E. González<sup>c</sup> and Iván F. Palomo<sup>a,b</sup>

Blood Coagulation and Fibrinolysis 2012, 23:109-117

# Aislamiento e Identificación Biodirigida de Compuesto Antiplaquetario

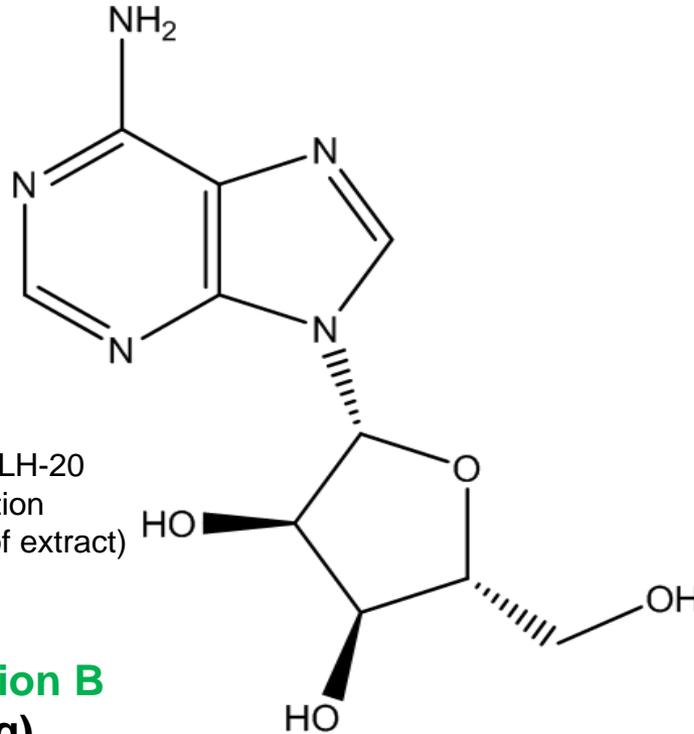


*S. lycopersicum*

(6 Kg)

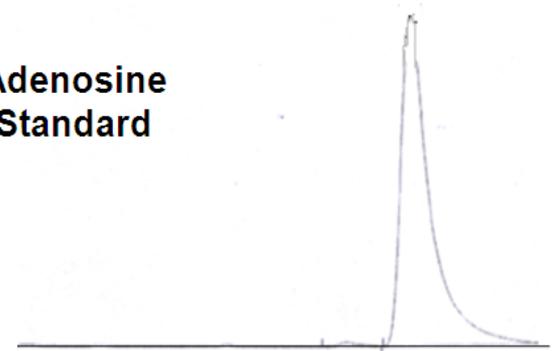
minced and filtered

Tc  
(4)

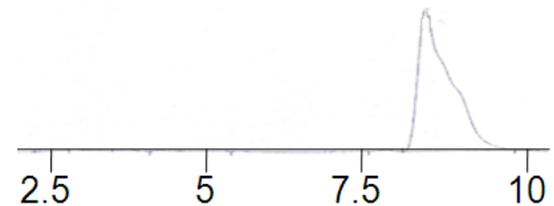


Abundance (AU)

Adenosine Standard

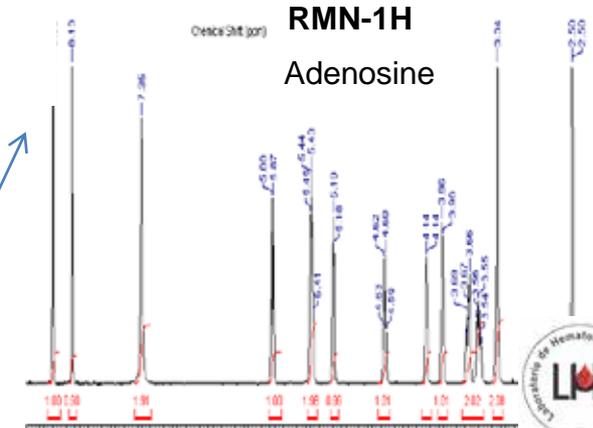


Ind C



Time (min)

RMN-1H  
Adenosine



Aqueous Fraction

(0.3% w/w yield)

Inhibe la función plaquetaria aguda ex vivo ~20% (ADP)

60 mg/Kg

n: 6

Sephadex LH-20 permeation (from 2.32 g of extract)

Subfraction A

(1.4 g)

Subfraction B

(0.8 g)

TLC preparative (from 50 mg)

Band A

Band B

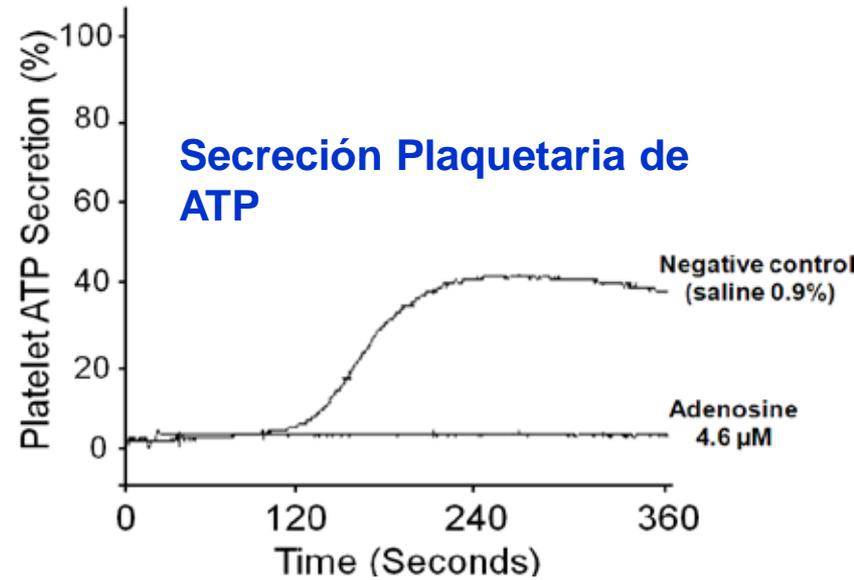
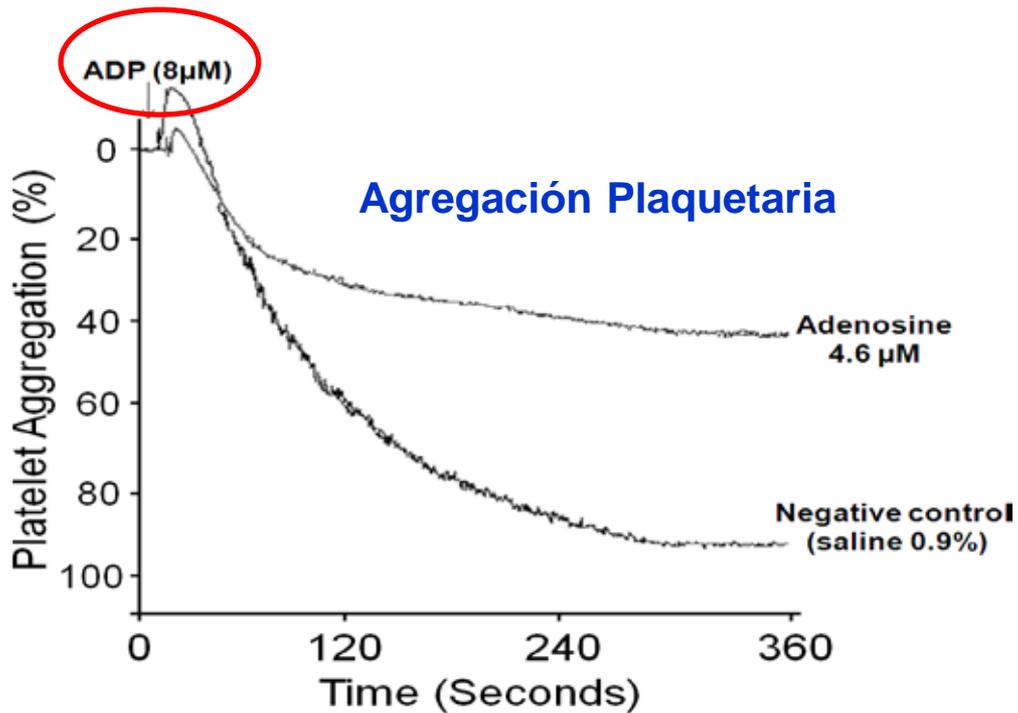
Band C

(27 mg)



TLC

# Adenosina Inhibe Agregación y Secreción Plaquetaria



# Adenosina Inhibe la Adhesión y Agregación Plaquetaria Bajo Flujo Controlado



**Adenosina**  
1.2 mM: 94.5±10

**BioFlux system**

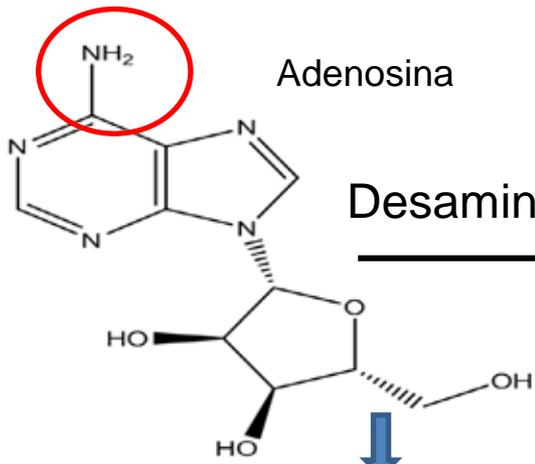


**Control Salino**

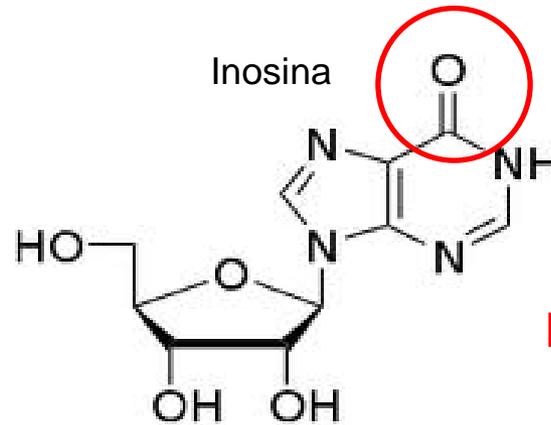
**Matriz:** colágeno (200 µg/mL)  
**Muestra:** Sangre total anticoag –Calcein (4 µM)  
**Velocidad flujo:** 1000 s-1  
**Duración:** 10 min (comprimido en 20 s)

Fuentes E, Castro R, Astudillo L, Carrasco G, Alarcón M, Gutiérrez M, Palomo I. Bioassay-guided Isolation and HPLC determination of adenosine in extracts from industrial tomato (*Solanum lycopersicum*) processing and its Mechanisms of Antiplatelet Action. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, (Submitted)

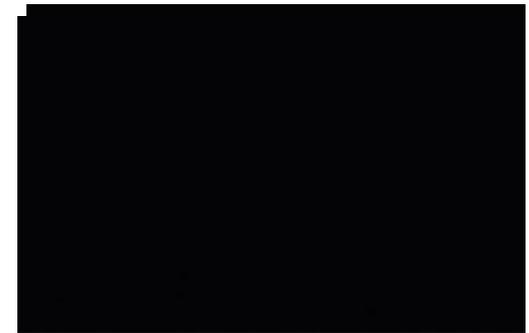
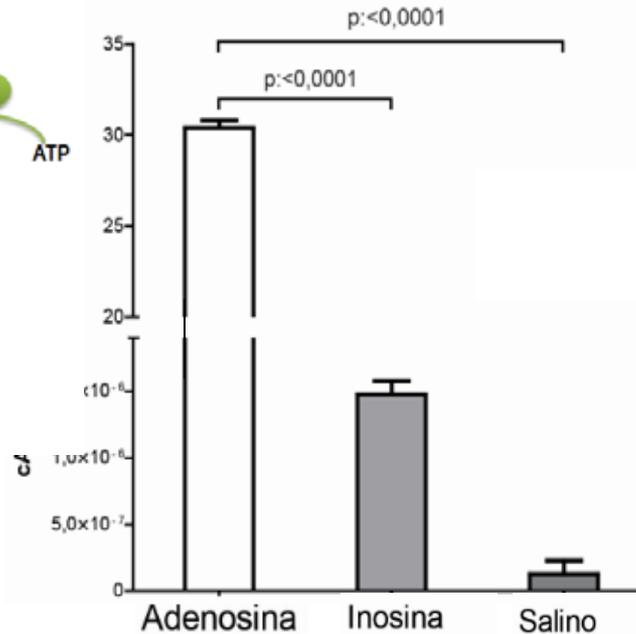
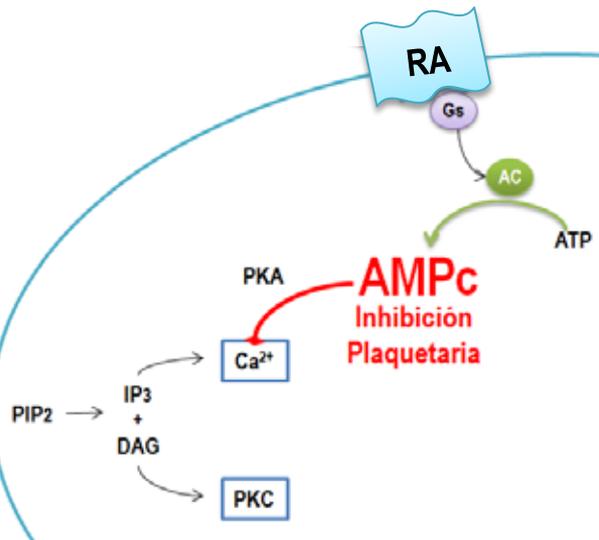
# Mecanismo de Acción Antiplaquetaria de Adenosina



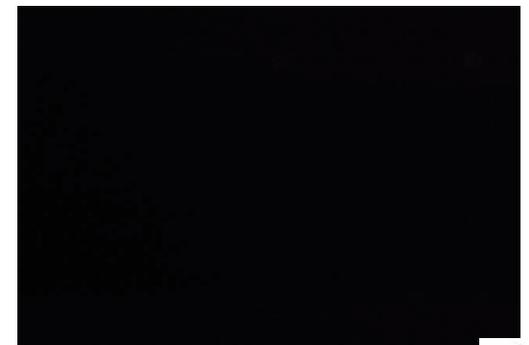
Desaminación



**Inhibición Agregación Plaquetaria (colágeno)**

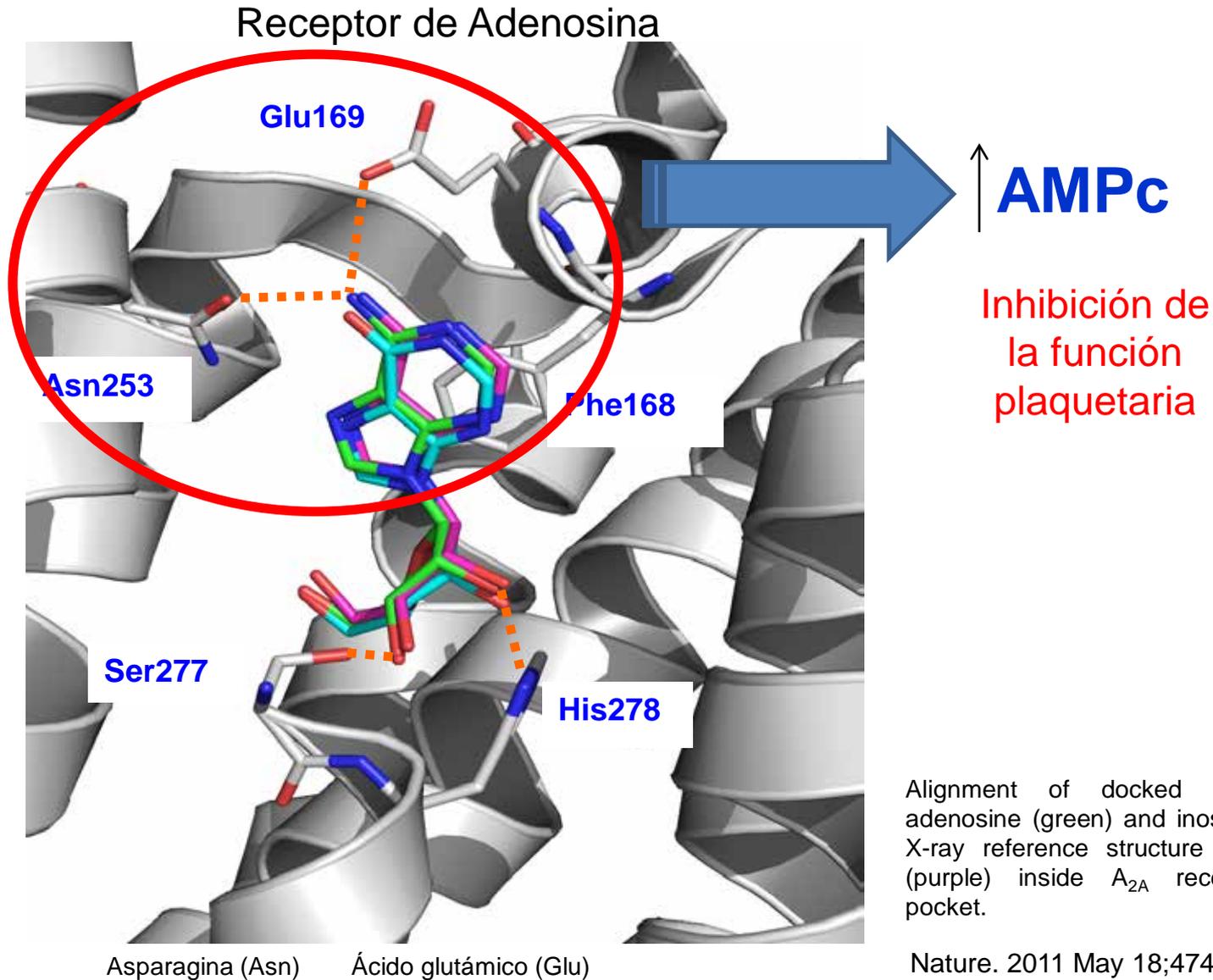


Inosina 3.7 mM



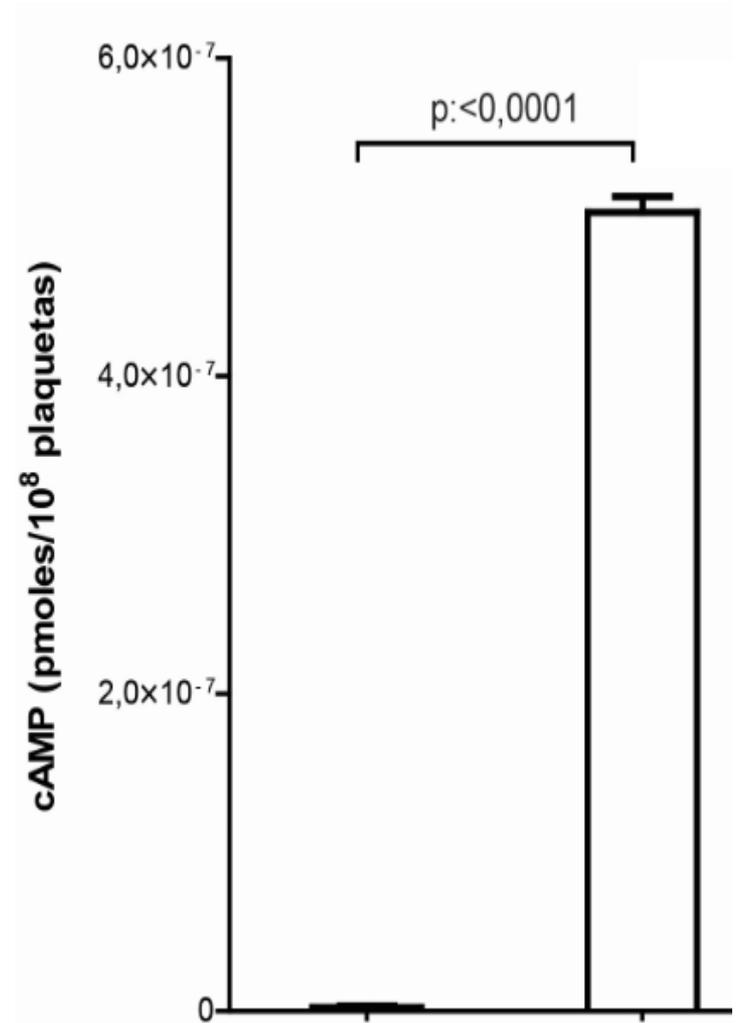
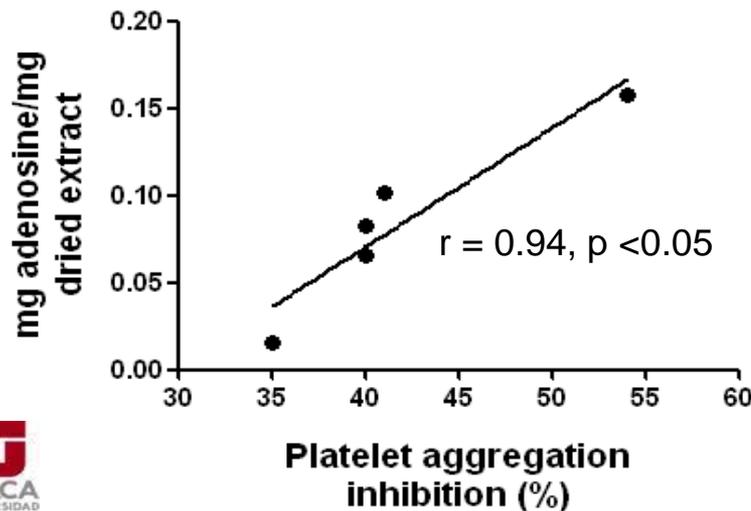
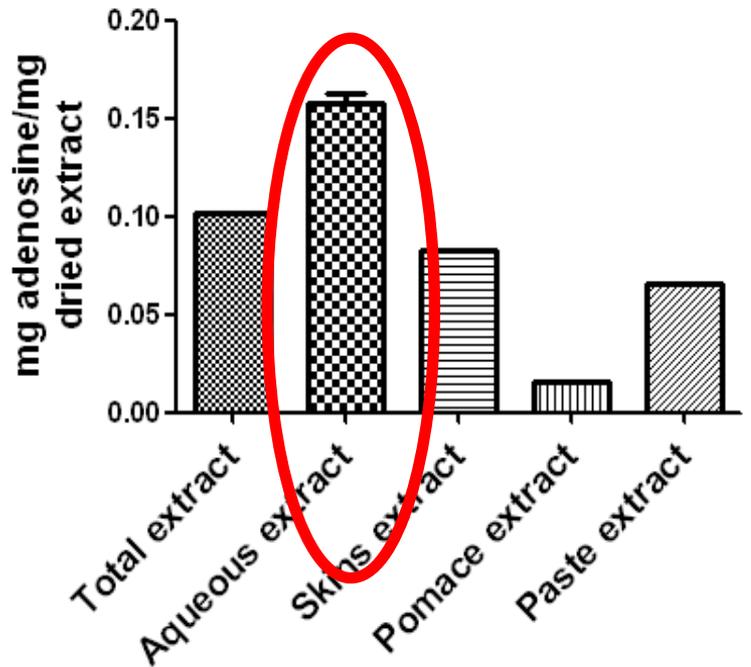
Control Salino

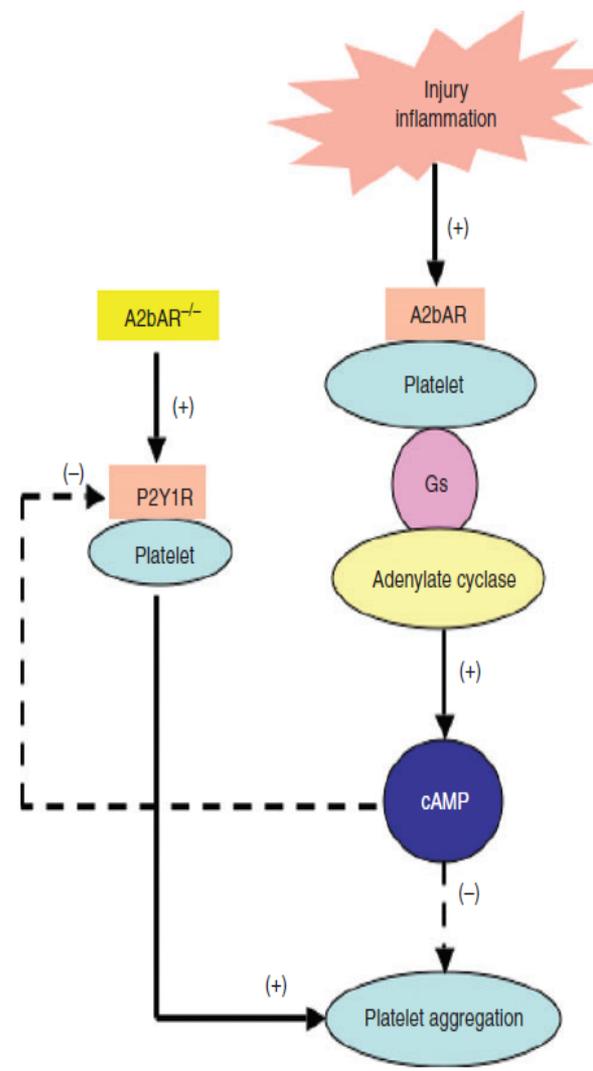
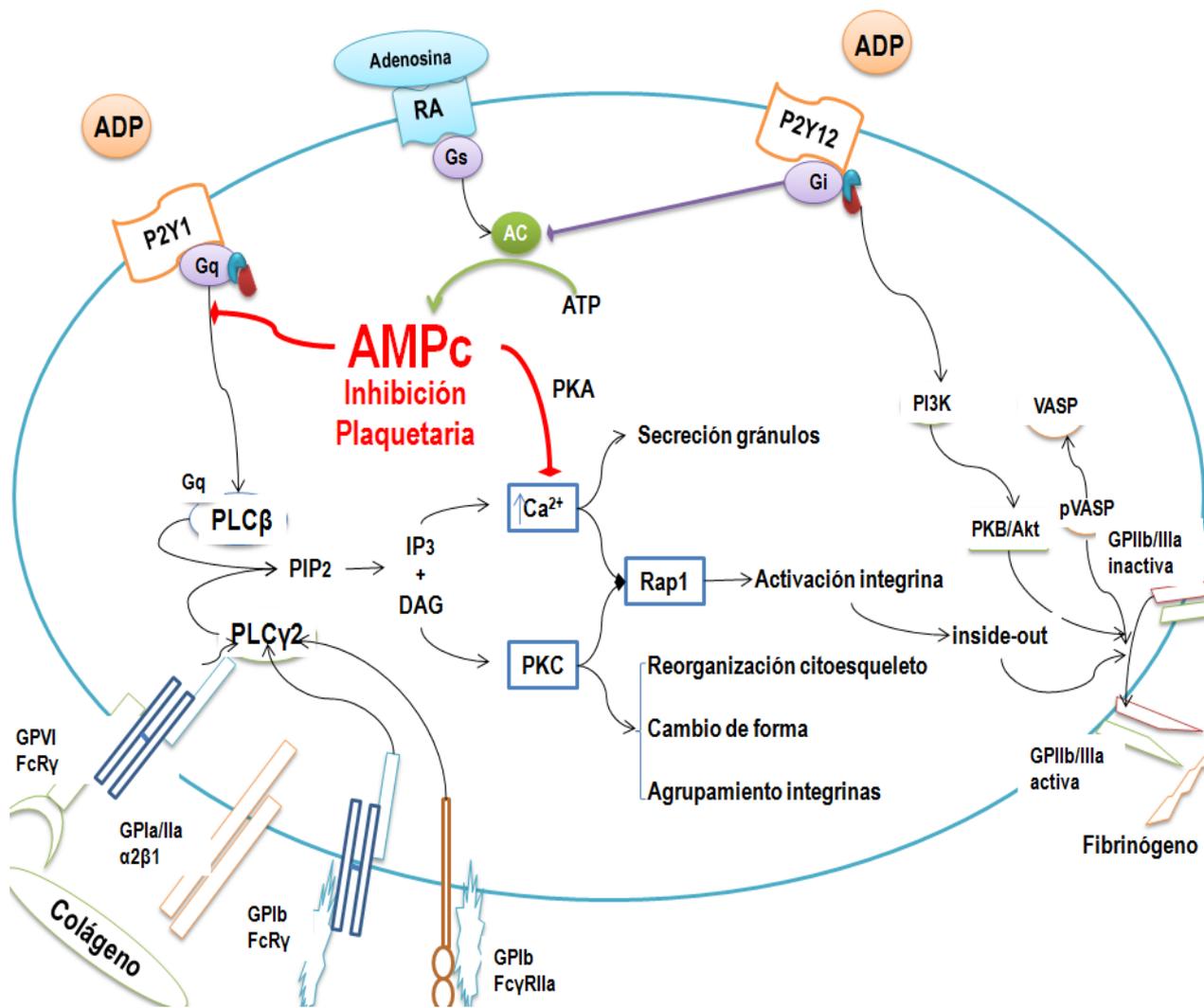
# Interacción ligando-receptor (Niveles de AMPc)



Nature. 2011 May 18;474(7352):521-5

# Proyección de Alimentos Funcionales





# CONCLUSIÓN

## Científica

A través de un ensayo biodirigido fue posible aislar, identificar y establecer el mecanismo de acción de adenosina de *S. lycopersicum*.

Cambio en un grupo funcional (Adenosina à Inosina) cambia la especificidad de acción pero no la actividad antiplaquetaria.

## Aplicada

Fracciones de *S. lycopersicum* pueden ser denominados ingredientes funcionales (inhibidores de la función plaquetaria) que pueden ser incluidos en alimentos de consumo masivo, otorgándoles un posible efecto preventivo de enfermedades cardiovasculares.

# Agradecimientos

Sociedad Chilena de Hematología.

Doctorado en Ciencias con mención en Investigación y Desarrollo de Productos Bioactivos. Universidad de Talca.

Centro de Estudios en Alimentos Procesados (CEAP), Conicyt-Regional, Gore Maule, R09I2001, Talca, Chile (Proyecto Basal).





UNIVERSIDAD DE TALCA  
INSTITUTO DE QUIMICA DE RECURSOS NATURALES  
DOCTORADO EN CIENCIAS, MENCIÓN INVESTIGACIÓN  
Y DESARROLLO DE PRODUCTOS BIOACTIVOS

# Bioassay-guided Isolation and HPLC determination of Bioactive Compound That Relate to the Anti-Platelet Activity (adhesion, secretion and aggregation) from *Solanum lycopersicum*

---

Aceptado eCAM Impact Factor: 4.8

EDUARDO FUENTES Q

Alarcón M, Castro I, Astudillo L, Gutiérrez M, Caballero J, Palomo I.



05 Octubre del 2012