



Actividad citotóxica de *Solanum melongena* L.

M.V. Toro Sáinz
 J.S. Batanero Japón
 M. Gálvez Peralta
 C. Martín-Cordero

Introducción

En los últimos años se ha puesto de manifiesto que ciertos alimentos que forman parte de nuestra dieta habitual contienen, además de los principios nutritivos, otros componentes que les proporcionan efectos beneficios para la salud, en cuanto a la prevención y tratamiento de ciertas enfermedades, y que se encuentran de manera especial en vegetales, frutas, cereales y legumbres.

La berenjena (*Solanum melongena* L., Solanaceae) es una especie con alto valor nutricional que contiene vitaminas (A, B₁, B₂, B₆, C), esteroides (β-sitosterol, estigmasterol), ácidos fenólicos (ácido clorogénico y ácido cafeico)^(1, 2), antocianos⁽³⁾, flavonoides⁽⁴⁾ y alcaloides esteroídicos⁽⁵⁾. Posee actividad antioxidante⁽⁶⁾, analgésica, antipirética⁽⁷⁾, antiinflamatoria⁽⁸⁾, hipolipemiente^(9, 10) y antialérgica⁽¹¹⁾, lo que le convierte en un alimento funcional.

En Andalucía, los frutos de *S. melongena* son empleados de forma tópica para la eliminación de verrugas, por lo que el objeto de este trabajo ha sido validar este empleo realizando un ensayo biológico de citotoxicidad a partir de los frutos de *S. melongena*, utilizando tres líneas celulares tumorales humanas recomendadas y cedidas por el NCI (Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos): TK-10 (adenocarcinoma renal), MCF-7 (adenocarcinoma de mama) y UACC-62 (melanoma).

Para estudiar el posible mecanismo de la citotoxicidad hemos estudiado si los alcaloides aislados tenían como blanco a la enzima topoisomerasa I. Las topoisomerasas son enzimas implicadas en procesos celulares vitales como la replicación y transcripción del ADN. La topoisomerasa I rompe y repara una hebra de la doble hélice y la presencia de un inhibidor de topo I impide que la enzima

restaure los extremos cortados, con lo que se generan fragmentos de ADN con una cadena abierta (OC), tóxicos para la célula.

Material y métodos

Se ha separado el epicarpo de la pulpa de los frutos de *Solanum melongena* L. Ambas muestras fueron sometidas a extracción por maceración acuosa durante 24 horas, obteniendo dos extractos acuosos que hemos denominado extracto A y B, respectivamente. Posteriormente realizamos un estudio de citotoxicidad, utilizando tres líneas celulares tumorales humanas: TK-10 (adenocarcinoma renal), MCF-7 (adenocarcinoma de mama), UACC-62 (melanoma), siguiendo el protocolo de Monks y cols.⁽¹²⁾, utilizando como técnica de tinción la de sulforodamina B (SRB), que permite estudiar la inhibición del crecimiento celular (cálculo de IC50 o concentración capaz de reducir al 50% el crecimiento celular). La sulforodamina B, se une a las proteínas celulares, midiéndose espectrofotométricamente la densidad óptica a 492 nm, lo que nos proporciona información sobre el crecimiento celular relativo o viabilidad de las células. Como control positivo utilizamos etopósido.

El extracto activo fue sometido a estudio cromatográfico en columna de Sephadex LH20 (Pharmacia), utilizando como fase móvil, mezcla de agua/metanol 70:30. Las fracciones obtenidas fueron sometidas a ensayo de citotoxicidad; de las fracciones activas se separaron dos compuestos por cromatografía preparativa que fueron identificados por sus espectros de masa tipo FAB. Posteriormente, realizamos un ensayo de inhibición de topoisomerasa I con los compuestos aislados según la técnica de Hsiang⁽¹³⁾, utilizando como patrón camptotecina

Resultados y discusión

En el estudio de citotoxicidad del extracto A (procedente del epicarpo) y el extracto B (procedente de la pulpa), resultó activo el extracto B, con valores de concentración inhibitoria del crecimiento 50 (CI50) comprendidos entre 45,3 y 47,9 mg/ml (TABLA 1).

Del estudio cromatográfico del extracto B se obtuvieron 70 fracciones, que se agruparon de acuerdo a su comportamiento cromatográfico, que fueron sometidas nuevamente a ensayos de citotoxicidad (TABLA 2). De las fracciones activas (14-29, 30-36 y 37-49) se aislaron por cromatografía preparativa dos compuestos puros de naturaleza alcaloídica. A partir de los datos obtenidos en los espectros de masa tipo FAB y por comparación con los datos bibliográficos⁽¹⁴⁾, se identificaron como solanina y solasonina, aislados previamente de otras especies del género *Solanum*.

En el ensayo de inhibición de topoisomerasa I, realizado en gel de agarosa, con los alcaloides solanina, solasonina y camptotecina, hemos detectado fragmentos de ADN circular abierto (OC) que

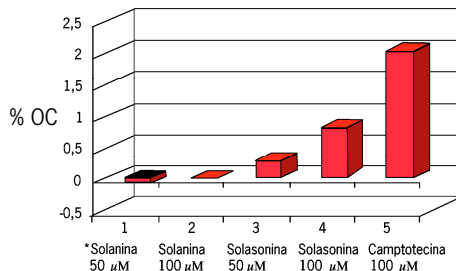


FIGURA 1. Cuantificación de la formación de fragmentos de ADN de cadena abierta (CO) por la presencia de venenos de topoisomerasa I.

cuantificamos por densitometría. La cuantificación se ha representado en la FIGURA 1, donde se observa que el alcaloide solasonina presenta actividad como veneno de topoisomerasa I a las concentraciones ensayadas de 50 y 100 µM.

Muchas especies del género *Solanum* muestran potentes actividades citotóxicas y antitumorales⁽¹⁵⁻¹⁸⁾, que parecen ser debidas a la presencia de alcaloides esteroidicos⁽¹⁹⁻²³⁾. Ensayos clínicos

EXTRACTOS	IC ₅₀ (µg/mL)		
	TK-10	MCF-7	UACC-62
A	>250	>250	>250
B	47,9	46,3	45,3

TABLA 1. Resultados de los ensayos de cito carpo (extracto A) y de la pulpa (extracto B).

FRACCIÓN	IC ₅₀ (µg/mL)		
	TK-10	MCF-7	UACC-62
[1-7]	>250	>250	>250
[8-13]	>250	>250	>250
[14-29]	54,0	59,2	52,5
[30-36]	45,2	45,9	47,1
[37-49]	79,6	53,4	47,1
[50-70]	>250	>250	>250

TABLA 2.- Resultados de los ensayos de citotoxicidad de las fracciones obtenidas en el estudio cromatográfico del extracto B, extracto acuoso procedente de la pulpa.



realizados con extractos purificados que contenían algunos de estos alcaloides han mostrado su efectividad en lesiones de piel no malignas (queratosis y queratoacantomas) y malignas (carcinoma de células basales y carcinoma de células escamosas)⁽²⁴⁾. En Francia y Australia se comercializan extractos alcaloídicos de *Solanum sodo-meum*, con un 33% de solasonina y un 33% de solamargina, para el tratamiento tópico de ciertas lesiones precancerosas y tumores dérmicos⁽²⁵⁾.

Autores

M.V. Toro Sáinz, J.S. Batanero Japón, M. Gálvez Peralta y C. Martín-Cordero

Departamento de Farmacología

Facultad de Farmacia

Universidad de Sevilla

Referencias bibliográficas

- Whitaker BC, Stommel JR. Distribution of Hydroxycinnamic Acid Conjugates in Fruit of Commercial Egg plant (*Solanum melongena* L.) Cultivars. *J Agric Food Chem* 2003; 51:3448-3454.
- Winter M, Herrmann K. Esters and glucosides of hydroxycinnamic acids in vegetables *J Agric Food Chem* 1986; 34:616-620.
- Noda Y, Kneyuki T, Igaraski M, Mori A, Packer L. Antioxidant activity of nasunin, an anthocyanin in eggplant peels. *Toxicology* 2000; 148: 119-123.
- Sudheesh S, Sandhya C, Koshy AS, Vijayalakshmi NR. Antioxidant activity of flavonoid from *Solanum melongena*. *Phytother Res* 1999; 13:393-396.C
- Bajak KL, Kaur, G, Chadka, M. L. Glycoalkaloid content and other chemical constituents of the fruits of some eggplants (*Solanum melongena* L.). *Journal of Plant Foods* 1979;3:163-168.
- Noda Y, Kaneyuki T, Igarashi K, Mori A, Packer L. Antioxidant activity of nasunin, an anthocyanin in eggplant. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol* 1998;102:175-187.
- Mutalik S, Paridhavi C, Mallikarjuna R, Udupa N. Antipyretic and analgesic effect of leaves of *Solanum melongena* L. in rodents. *Indian J Pharmacol* 2003; 35: 312-315.
- Han SW, Tae J, Kim JA, Kim DK, Seo GS, Yun KJ, Choi SC, Kim TH, Nah YH, Lee YM. The aqueous extract of *Solanum melongena* inhibits PAR2 agonist-induced inflammation. *Clin Chim Acta*. 2003 ;328:39-44.
- Sudheesh S, Presannakumar G, Vijayakumar S, Vijayalakshmi NR. Hypolipidemic effect of flavonoids from *Solanum melongena*. *Plant Foods Hum. Nutr* 1997; 51: 321-330.
- Guimaraes PR, Galvao AM, Batista CM, Azevedo GS, Oliveira RD, Lamounier RP, Freire N, Barros AM, Sakurai E, Oliveira JP, Vieira EC, Alvarez-Leite JL. Eggplant (*Solanum melongena*) infusion has a modest and transitory effect on hypercholesterolemic subjects. *Braz J Med Biol Res* 2000; 33: 1027-1036.
- Lee YM, Jeong HJ, Na HJ, Ku JY, Kim DK, Moon G, Chae HJ, Kim HR, Baek SH, Kim HM. Inhibition of immunologic and nonimmunologic stimulation-mediated anaphylactic shocks by water extract of white eggplant (*Solanum melongena*). *Pharmacol. Res.* 2001; 43: 405-409.
- Monks A, Scudeiro D, Skehan P, Shoemaker R, Paull K, Vistica D, Hose C, Jangley J, Cronise P, Vaigro-Wolff A, Gray-Goodrich M, Campell H, Mayo J, Boyd M. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *J. Natl. Cancer Inst.* 1991; 83: 757
- Hsiang, Y H; Lihou, M G; Liu, L F Arrest of replication forks by drug-stabilized topoisomerase II-DNA cleavable complexes as a mechanism of cell killing by camptothecin *Cancer Research* 1989; 18: 5077-5082
- Chen S, Derrick PJ, Mellon FA, Price KR. Analysis of Glycoalkaloids from Potato Shoots and Tomatoes by Four-Sector Tandem Mass Spectrometry with Scanning-Array Detection: Comparison of Positive Ion and Negative Ion Methods. *Anal Biochem* 1994 ; 218: 157-169.
- Ren W, Tang DG. Extract of *Solanum muricatum* (Pepino/CSG) inhibits tumor growth by inducing apoptosis. *Anti-cancer Res* 1999; 19: 403-408.
- De Lorenzo MS, Lorenzano Menna PL, Alonso DF, Gomez DE. In vitro activity of a *Solanum tuberosum* extract against mammary carcinoma cells. *Planta Med* 2001; 67: 164-166
- Estevez-Sousa A, Sarmiento da Silva T, Fernandes Alves C, Carvalho MG, Braz-Filho R, Echevarria A. Cytotoxic activity against Ehrlich carcinoma and human K562 leukaemia of alkaloids and flavonoid from two *Solanum* species. *J Braz Chem Soc* 2002; 13.
- Lin CN, Lu CM, Chang MK. Cytotoxic principles of *Solanum incanum* . *J Nat Prod* 1990; 53: 513-516
- Badami S, Reddy SAM, Kumar EP, Vijayan P, Suresh B. Antitumor activity of total alkaloids fraction of *Solanum pseudocapsicum* leaves. *Phytoter. Res* 2003; 17: 1001-1004.
- Cham BE, Gilliver M, Wilson L. Antitumour Effects of glycoalkaloids isolated from *Solanum sodomium* . *Planta Med* 1987; 53:34-36.
- Cham BE, Daunter B, Evans, RA. Topical treatment of malignant and premalignant skin lesions by very low concentrations of a standard mixture (BEC) of solasodine glycosides. *Cancer Letters* 1991; 59: 55-58.
- Cham BE, Daunter B. Solasodine glycosides. Selective cytotoxicity for cancer cells and inhibition of cytotoxicity by rhamnose in mice with sarcoma 180. *Cancer Lett* 1990; 55:221-225.
- Daunter B, Cham BE. Solasodine glycosides. In vitro preferential cytotoxicity for human cancer cells. *Cancer Lett.* 1990; 55:209-220.
- Nishie K, Gumbmann MR, Keyl A. FALTA EL TÍTOL *Toxicol Appl Pharmacol* 1071; 19: 81-92
- Cham BE, Daunter B, Evans RA. Topical treatment of malignant and premalignant skin lesions by very low concentrations of a standard mixture (BEC) of solasodine glycosides. *Cancer Lett.* 199; 59:183-192.