

Actividad Cardiotónica de las semillas de *Mandevilla pentlandiana* (A. DC.) Woodson

PABLO LUFRANO, SANTIAGO STARITA Y OSVALDO A. N. BALDINI

*Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas,
Universidad Nacional de La Plata, calles 47 y 115, La Plata 1900, Argentina*

RESUMEN. Semillas maduras de *Mandevilla pentlandiana* (A. DC.) Woodson (Apocynaceae) fueron molidas y desgrasadas con éter de petróleo para ser luego sometidas a una extracción por percolación a temperatura ambiente con etanol de 95° y con metanol. El extracto alcohólico fue tratado con solución metanólica de acetato de plomo y que corriente sulfhídrica y posteriormente llevado hasta peso constante a presión reducida y a 40°C. El producto crudo así obtenido fue ensayado farmacológicamente mediante técnicas que evidencian directa o indirectamente la presencia de glicósidos cardiotónicos, observándose respuestas positivas en todos los casos.

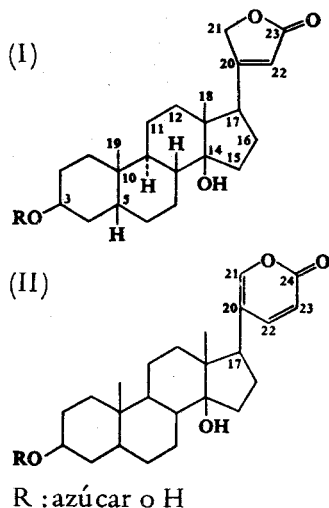
SUMMARY. Mature seeds of *Mandevilla pentlandiana* (A. DC.) Woodson (Apocynaceae) were milled and defated with petroleum ether and then percolated with ethanol 95° and methanol at room temperature. A methanolic solution of lead acetate was added to the alcoholic extract and then a stream of hydrogen sulfide was made run trough. After centrifugation the supernatant was concentrated under reduced pression at 40 °C until constant weight. This crude product was pharmacologically assayed by the use of methods of direct and indirect evidence of cardiotonic glycosides, with positive responses in all cases.

INTRODUCCION

La naturaleza brinda, principalmente en el Reino Vegetal, una clase de sustancias de estructura química glicosídica con particular actividad sobre el miocardio. La propiedad farmacológica de mayor relevancia de estos principios activos naturales, conocidos como **cardiotónicos**, viene dada por la capacidad de incrementar la fuerza y la velocidad de la contracción sistólica del músculo cardíaco. Este efecto se pone de manifiesto en corazones normales y especialmente sobre corazones insuficientes¹.

Un hecho muy interesante con relación a la estructura química de estas sustancias es que la porción aglicona consiste en un núcleo esteroide que posee un anillo lactónico en C₁₇. De acuerdo a la naturaleza de este anillo lactónico, los cardiotónicos naturales pueden dividirse en dos grandes grupos: **cardenólidos** (I) y **bufadienólidos** (II). Los cardenólidos presentan una γ lactona $\alpha-\beta$ insaturada, mientras que los bufadienólidos poseen una lactona de seis miembros con dos dobles enlaces conjugados. Las variaciones químicas de las agliconas son numerosas y generalmente obedecen a cambios con-

figuracionales en torno a los carbonos 3, 5 y 17, como así también a la presencia o ausencia de funciones oxigenadas y de dobles enlaces.



La aglicona de estos principios activos se halla unida mediante un enlace glicosídico en el C₃ a uno o más tipos de azúcares de acuerdo al siguiente esquema general: aglicona -(azúcar raro)_m -(glucosa)_n.

Los glicósidos cardiotónicos se encuentran en plantas de familias muy diversas tales como Apocynaceae, Asclepiadaceae, Liliaceae, Moraceae, Scrophulariaceae, Ranunculaceae, etc. En lo que se refiere a su localización se los ubica en pequeñas cantidades en semillas, hojas, raíces, corteza, tallos y bulbos².

De los dos tipos de glicósidos cardiotónicos, los cardenólidos merecieron nuestra primera atención por ser los más abundantes en la naturaleza y por hallarse entre ellos importantes representantes de uso farmacológico.

Es nuestro propósito iniciar una exhaustiva investigación acerca de la presencia de estos principios activos, de su aislación, purificación y evaluación respecto a la aplicación terapéutica, en todos aquellos vegetales pertenecientes a las familias productoras de cardenólidos que no consignan estudio alguno desde este punto de vista y que crecen en nuestro país. En esta instancia el material seleccionado consiste en semillas de *Mandevilla pentlandiana* (A. DC.) Woodson (Apocynaceae), habiéndose decidido iniciar esta atrayente búsqueda con un representante de esta familia, alentados por el elevado número de Apocináceas que producen cardenólidos.

En la Tabla I se detallan los principales representantes de esta familia en los que se ha confirmado la presencia de cardiotónicos, algunos de los cuales (*Strophanthus gratus*, *S. kombe*) ya hace tiempo han adquirido valor universal por su aplicación en la farmacología clínica.

especies cardenólidos	refs.	especies cardenólidos	refs.
<i>Acokanthera longiflora</i>		Ouabaína	
Acolongiflorósido K	3	<i>A. spectabilis</i>	
<i>A. oppositifolia</i>		Acovenósido A	5
Acotriósido L	4	Acovenósido C	
Acolongiflorósido H		Acobiosa	
Acovenósido C		<i>Apocynum androsaemifolium</i>	
Acolongiflorósido K		K-Estrofantina-β	6

especies cardenólidos	refs.	especies cardenólidos	refs.
<i>A. cannabinum</i>		Zettósido	
Cimarina	7,8	17 H-Zettósido	
Apocannósido		<i>Strophanthus divaricatus</i>	
<i>A. lancifolium</i>		Estrofantidina A	18
K-Estrofantina-β	9	D-Estrofantina	19
<i>Beaumontia grandiflora</i>		<i>S. gratus</i>	
Beauwalósido	10	Ouabaína	20
Beaumontósido		Acolongiflorósido K	
Wallichósido		Estrogósido	
<i>Carissa spinarum</i>		Sarmentósido E	
Odorósido H	11	<i>S. kombe</i>	
Evamonósido		Periplocimarina	21
Odorodide G		Cimarina	
<i>Cerbera floribunda</i>		Periplocina	
Cerbetina	12	K-Estrofantina-β	
Desacetilcerbetina		Erisimósido	
<i>C. dilatata</i>		K-Estrofantósido	
Cerbetina	12	<i>S. sarmentosus</i>	
Desacetilcerbetina		Bipindalósido	22
<i>C. manghas</i>		<i>S. thollonii</i>	
Tanghinigenina	13	Sarmentosigenina A	23
Digitoxigenina		<i>S. vanderijstii</i>	
Cerberina		Callengósido	24
Neirifolina		Digluco digitoxigenina	
Thevetina B		Diglucoemicimarina	
2-O-acetil thevetina B		Digluco periplogenina	
<i>Melodinus monogynus</i>		Digluco silsarmentocimarina	
Medigenina	14	Glicósido O	
Ginina		Glicósido Q ₁	
<i>Nerium odorum</i>		Kisantósido	
Neriumósidos	15	Sargenósido	
<i>N. oleander</i>		<i>Tanghinia venenifera</i>	
Adigósido	16	Tanginina	25
Adimerina		Tanginósido	
Oleandrina		<i>Thevetia nereifolia</i>	
Deacetiloleandrina		Ruvósido	26, 27
Neritalósido		Thevetina A	
Urechitoxina		Thevetina B	
Adinerina		<i>Vallisneria spiralis</i>	
<i>Roupellina boivini</i>		16-Deacetil-anhidro-	28
17 H-Boistrósido	17	acoschimperósido P	
Glicósido φ		Acetilacoschimperósido P	
Glicósido φ'		Solanósido	
Madagascósido		Acetilsolanósido	
17 H-Madagascósido		Vallarósido	
17 H-Pauliósido		Acetilvallarósido	
Sadlerósido		Vallarsolanósido	

Tabla I. Cardenólidos de Apocináceas

MATERIAL Y METODOS

El material utilizado consistió en semillas provenientes de ejemplares silvestres de *Mandevilla pentlandiana* (A. DC.) Woodson (Apocynaceae), recolectadas en Río Ceballos (Córdoba) durante el mes de Julio de 1980.

Cuatrocientos gramos de estas semillas previamente molidas y al abrigo de la luz fueron desgrasadas en un Soxhlet con éter de petróleo (30 - 60 °C). Luego se practicó una extracción por lixiviación a temperatura ambiente con ocho litros de etanol y cuatro de metanol en forma separada, con una velocidad de flujo de aproximadamente 4 ml/min. Del extractivo alcohólico se eliminaron las sustancias fenólicas con solución metanólica saturada de acetato de plomo de reciente preparación, hasta reacción negativa de las mismas frente a cloruro férrico en medio clorhídrico. Mediante centrifugación se separó el sobrenadante, efectuándose dos lavados del decantado con alcohol metílico.

Sobre los líquidos reunidos provenientes de la etapa anterior se hizo burbujear una corriente de gas sulfhídrico a los efectos de remover el ión plomo del medio; el burbujeo se prolongó hasta que no se evidenciara enturbiamiento en una alícuota previamente filtrada. El sulfuro de plomo fue separado por centrifugación, en tanto que el sobrenadante y los líquidos metanólicos de lavado se evaporaron a presión reducida en un evaporador rotatorio a 40 °C hasta obtener una masa siruposa, la que luego se llevó a peso constante en un desecador bajo

condiciones de vacío, a la misma temperatura.

El producto sólido así obtenido fue ensayado farmacológicamente mediante técnicas que evidencian directa o indirectamente las propiedades farmacológicas de los cardiotónicos.

Evidencias directas

1. *Perfusión de corazón de batracio*²⁹. Se trata de un preparado *in situ* en el cual la punta del corazón de un batracio, de aproximadamente 150 g de peso, se une a una palanca inscriptora a través de un hilo y mediante una cánula colocada en la vena cava se efectúa la perfusión con distintas soluciones experimentales, de acuerdo al siguiente orden:

a) En primer término se perfundió solución Ringer-batraco hasta lograr un trazado del movimiento cardíaco estable

b) Luego se efectuó una transfusión con una solución de embutal al 0.02 % preparada en Ringer-batraco, hasta deprimir el trazado cardíaco

c) A continuación se hizo perfundir una solución al 0.05 % del producto crudo, empleando como solvente la solución ensayada en segundo orden. Se registraron los movimientos y los resultados se expresaron como porcentaje de aumento de la amplitud del trazado respecto al registro en b). Los datos fueron procesados estadísticamente, indicándose el valor promedio de los mismos.

2. *Perfusión de corazón aislado de rata*. Los corazones de tres ratas fueron perfundidos según la adaptación de la técnica de Langendorff³⁰.

La experiencia se llevó a cabo en un equipo diseñado para permitir el cambio instantáneo de la perfusión con la solución control a la perfusión con una solución del producto crudo al 0.002 %. El análisis de los registros de la actividad mecánica permitió observar el aumento de la amplitud de la contracción y de la velocidad máxima de contracción provocada por la sustancia en estudio.

3. *Músculo papilar de gato.*

Se realizaron ocho experiencias con músculos papilares obtenidos de ventrículo derecho de gatos. Los animales empleados fueron anestesiados con embutal sódico por vía intraperitoneal con una dosis de 25 mg/kg. El corazón se extrajo rápidamente y se lavó con una solución Ringer-mamífero. Luego se pasó a una solución de la misma composición, previamente equilibrada con gas carbógeno; en estas condiciones se extrajo el papilar cuya longitud osciló entre 3 y 6 mm. y se suspendió en una pequeña cámara de vidrio conteniendo 12 ml de Ringer-mamífero equilibrada con gas carbógeno a 36 °C.

El extremo inferior mural del músculo se fijó a través de una pinza de acero inoxidable a la parte inferior de la cámara y mediante otra pinza del mismo material se conectó el extremo tendinosos a un transductor de fuerza Statham UC3. El músculo fue estimulado con un estimulador Phipps 611, mediante dos electrodos de acero inoxidable colocados en las paredes laterales de la cámara, paralelos al eje longitudinal del músculo, que permitieron una estimulación masiva del mismo.

Los estímulos se repitieron con una frecuencia de 12/min, una duración de 15 msec y una intensidad que estuvo aproximadamente un 20 % por encima del umbral.

La tensión desarrollada antes y después de la dosis ensayada del producto crudo (62,5 γ /ml) fue registrada en un polígrafo Beckman R511A. Los resultados se expresaron como porcentajes de aumento de la tensión del músculo papilar y de la velocidad de la contracción del mismo. Los datos así obtenidos fueron procesados estadísticamente, indicándose los valores promedios.

Evidencias indirectas

1. *Electrocardiograma en perros.*

Se efectuaron diez experiencias utilizando perros con un peso que osciló entre los 5 y los 8 kg. Los animales fueron anestesiados con embutal sódico en una dosis de 40 mg/kg y sometidos a respiración artificial. Los electrocardiogramas registrados mediante un polígrafo Rhomicron se obtuvieron en las siguientes condiciones:

a) Con el animal anestesiado en la forma descripta.

b) Inyectando lentamente a través de la vena yugular un volumen de solución de embutal sódico al 1 % hasta deprimir el trazado cardíaco.

c) Inyectando, inmediatamente después de provocada la depresión, a través de la vena yugular una dosis de 0,5 mg/kg del producto crudo en solución isotónica de cloruro de sodio.

2. *Ileon distal de cobayo*³¹. Se practicaron cinco ensayos en íleon distal de cobayos recientemente sacrificados, con un ayuno previo de 48 hs. En una cuba de vidrio para órgano aislado conteniendo 12 ml de solución Tyrode equilibrada con aire se suspendió, por medio de dos pinzas de acero inoxidable, un trozo de aproximadamente 1 cm de íleon distal. El aumento de la tensión del músculo liso provocado por una concentración de 190 γ /ml de baño, fue registrada en un polí-

grafo Beckman R511A mediante la amplificación de la señal emitida por un transductor de fuerza Statham UC3.

RESULTADOS

De acuerdo al método de aislamiento descrito, se obtuvo un rendimiento del 4% de producto crudo.

Los resultados de los ensayos farmacológicos se consignan en las figuras 1 a 4.

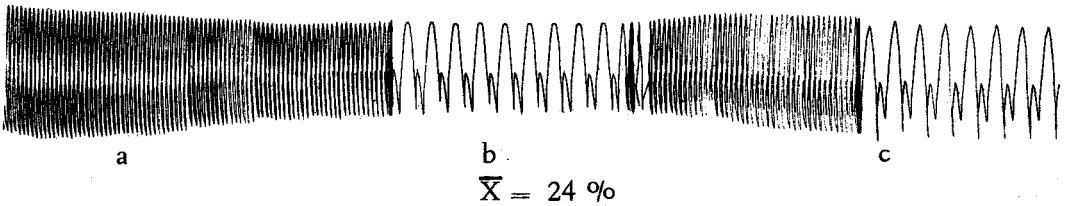
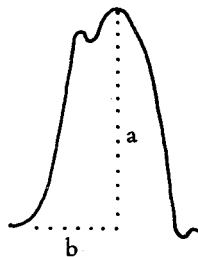
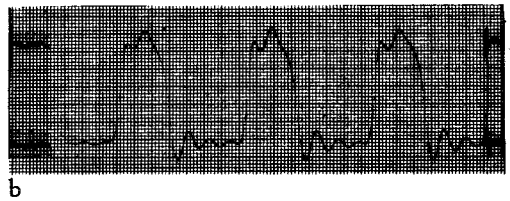
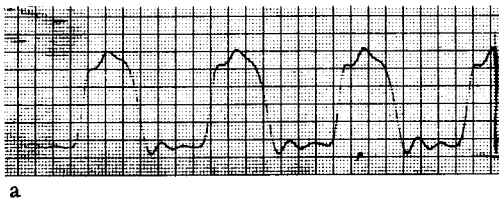


Figura 1. Perfusión de corazón de batracio: a) con solución Ringer-batraco (trazado normal), b) con solución de embutal al 0,02 ‰ en Ringer-batraco (depresión del trazado), c), con solución del producto crudo al 0,05 ‰; \bar{X} : valor-promedio porcentual del aumento de la amplitud del trazado c) con respecto al trazado b)



a : amplitud de la contracción

b : tiempo en lograr a

$v = \frac{a}{b}$: velocidad máxima de contracción

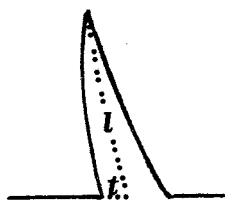
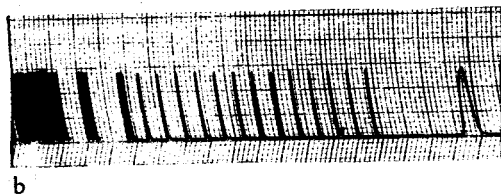
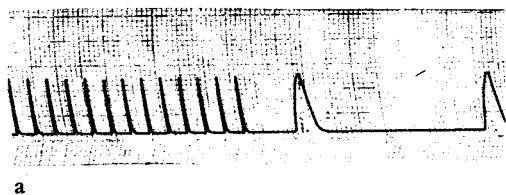
$\bar{\Delta a} \% = 15$

valor promedio porcentual del aumento de la amplitud.

$\bar{\Delta v} \% = 21$

valor promedio porcentual del aumento de la velocidad máxima de contracción.

Figura 2. Perfusión de corazón aislado de rata: a) con solución control, b) con solución del producto crudo al 0,002 ‰ en solución control.



l tensión del músculo papilar

t tiempo de contracción

$$v = \frac{l}{t} \text{ velocidad de contracción}$$

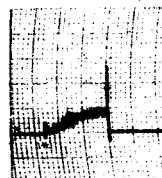
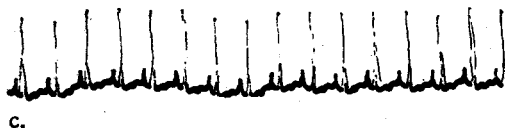
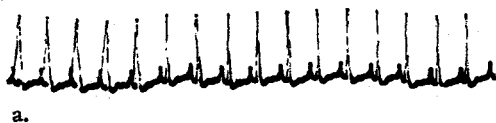
$$\overline{\Delta l} \% = 21.5$$

valor promedio porcentual del aumento de la tensión

$$\overline{\Delta v} = 26.3$$

valor promedio porcentual de la velocidad de contracción

Figura 3. Músculo papilar de gato : a) tensión desarrollada en condiciones normales, b) tensión desarrollada bajo el efecto de la sustancia ensayada.



* efecto del producto crudo

Figura 4. Evidencias indirectas: a) electrocardiograma en perro, con el animal anestesiado, b) durante la administración de embutal sódico al 1 0/0, c) luego de administrar una dosis de 0,5 mg/Kg del producto crudo, d) efecto sobre íleon distal de cobayo.

DISCUSION DE LOS RESULTADOS

En la perfusión de corazón de batiaco, la solución de embutal sódico modifica el trazado cardíaco, pudiéndose observar una marcada disminución del inotropismo. La perfusión de la solución del producto crudo produce un efecto inotrópico positivo aún en presencia del embutal sódico. El aumento de la contractilidad tiene un valor promedio del 24 %.

La perfusión de corazón aislado de rata permite observar dos efectos característicos de los cardiotónicos: a) un aumento del 15% de la amplitud de la contracción sistólica y b) un aumento del 21% de la velocidad de contracción sistólica.

El ensayo en papilar de gato confirma el efecto inotrópico positivo y el aumento de la velocidad de contracción por acción del producto crudo observados en corazón aislado de rata.

Los valores promedios porcentuales de los aumentos de la amplitud y de la velocidad de contracción son: 21,5 % y 26,3 %, respectivamente.

Los electrocardiogramas en perros posibilitan observar que: a) el embutal sódico, disminuye el voltaje del complejo QRS y altera la repolarización ventricular con cambios en el segmento ST y en la onda T. y b) la dosis de 0.5 mg/kg del producto crudo permite recuperar el voltaje del complejo QRS, la alteración a nivel del segmento ST y de la onda T, cambios provocados por el embutal sódico.

La experiencia con íleon distal de cobayo pone de manifiesto otra de las características de los cardenólidos²⁸, el aumento del tono del músculo liso.

De acuerdo a esta discusión es posible concluir que el producto crudo aislado de las semillas de *Mandevilla pentlandiana* (A.DC.) Woodson consigna la presencia de algún o algunos componentes con propiedad cardiotónica. Este hecho determina que el presente trabajo adquiera la índole de un estudio preliminar que nos compromete a continuar con la purificación y caracterización farmacológica de la fracción activa, a los efectos de evaluar su posible interés en la terapéutica clínica.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. American Hospital Formulary (1978) *Am. J. Hosp. Pharm.* 35 : 1495 - 507
2. Fiser, L. F. y M. Fiser (1959) "Steroids", Reinhold, New York, pág. 727.
3. Hanschild - Rogat, P., Ek. Weiss, y T. Reichstein (1962) *Helv. Chim. Acta* 45 : 1244.
4. Hanschild - Rogat, P., Ek. Weiss, y T. Reichstein (1967) *Helv. Chim. Acta* 50 : 2299 - 323.
5. Karawya, M. S., S. M. Abdel - Wahab, y H. M. Niazy (1974) *Egypt. J. Pharm. Sci.* 15 : 33 - 41.
6. Khagi, M.S., R.I. Shamsutdinov y T. T. Shakirov (1971) *Khim. Farm. Zh.* 5 : 33 - 41.
7. Gerlach, H., W. Grundmann y R. Giessner (1965) *Pharmazie* 20 : 450 - 5
8. Grundmann, W. y H. Gerlach (1967) *Pharm. Zentralh. Deut.* 106 : 501 - 8.
9. Ch'ang, Asu y Nan - Chun Sun (1966) *Yao Hsueh Hsueh Pao* 13 : 589 - 95.
10. Krasso, A. F., Ek. Weiss, y T. Reichstein (1963) *Helv. Chim. Acta.* 46 : 1691.

11. Rastoig, R. C., D. K. Kulshreshtha, y R. P. Rastoig (1969) *Indian J. Chem.* 7:1102 - 4
12. Cable, T., R. G. Coombe y T. R. Watson (1965) *Australian J. Chem.* 18:1079.
13. Abe, F. y T. Yamauchi (1977) *Chem. Pharm. Bull.* 25:2744 - 8.
14. Bhatnagar, S. O. D. y K. M. Prasad (1968) *Chem. Ber.* 101:2084 - 95.
15. Yamauchi, T., F. Abe, y M. Takahashi (1976) *Tetrahedron Lett.* 14:1115 - 6.
16. Hoffman, St., Ek. Weiss y T. Reichstein (1966) *Helv. Chim. Acta.* 49:1855.
17. Russel, J. H., O. Schindler y T. Reichstein (1961) *Helv. Chim. Acta* 44:1293 - 315.
18. Hung, Wei - Yuan y Yuh - Cheng Chen (1958) *Hua Hsueh Hsueh Pao* 24:151.
19. Institut. de Matier Medicale (1975) *Rev. Med. (Hanoi)* 132 - 43.
20. Geiger, U. P., Ek. Weiss y T. Reichstein (1967) *Helv. Chim. Acta* 50:179 - 93.
21. Makarevich, I. F. (1972) *Khim. Prir. Soedin* 1972:180 - 8
22. Fechtig, B., O. Schindler y T. Reichstein (1960) *Helv. Chim. Acta* 43:727, 1570.
23. Brandt, R., H. Kaufmann y T. Reichstein (1966) *Helv. Chim. Acta.* 49:1844.
24. Brenneisen, K., J. von Euw, Ch. Tamm y T. Reichstein (1964) *Helv. Chim. Acta.* 47:799 - 814.
25. Flury, E., Ek. Weiss y T. Reichstein (1965) *Helv. Chim. Acta.* 48:1113.
26. Rangaswani, S. y E. Venkata Rao (1961) *Proc. Indian Acad. Sci. Sec. A* 64:345.
27. Mahran, G. H., A. H. Saber y M. S. Ahmed (1971) *Bull. Fac. Pharm. Cairo Univ.* 9:165 - 80.
28. Vohra, M. M., G. K. Patnaik, R. S. Kapil y N. Anand (1966) *J. Pharm. Sci.* 55:1425.
29. Burn, J. H. (1959) "*Prácticas de farmacología*" Acribia, Zaragoza, pág. 57.
30. Argel, M. M. (1980) *Tesis*, U.N.L.P. Fac. Cs. Exactas, pág. 15.
31. Livingstone (1970) "*Pharmacological Experiments on Isolated Preparations*", pág. 58.