

Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto"

EFECTO DEL NERIUM OLEANDER L. EN MODELO DE CORAZÓN AISLADO DE COBAYO

Dr. Alfredo Céspedes Valcarcel,¹ Lic. Aida Corral Salvadó,² Lic. Clara Díaz Olivera,² y Lic. Yanet

Morales Fundora²

RESUMEN

Se realizó un estudio farmacognóstico y farmacológico del *Nerium oleander L.* con el objetivo de determinar la presencia de metabolitos activos en la planta y corroborar en un modelo de corazón aislado de cobayo (*Langerdorff*) el efecto que como cardiotónico se le atribuye. Se encontró la presencia de glicósidos cardiotónicos y se produjo un aumento ($p < 0,05$) de la contractilidad del músculo cardíaco con el uso de un extracto fluido con mensturo hidroalcohólico al 30 % a dosis de 0,71 mg/g y 1,39 mg/g de peso del corazón, sin embargo, la dosis de 5,13 mg/g provocó arritmias. El flujo coronario no varió.

Descriptores DeCS: OLEANDER/farmacología; CORAZON/efectos de drogas; GLICOSIDOS; COBAYOS.

SUMMARY

Authors performed a pharmacological and pharmacognosical study of *Nerium oleander L.* to assess presence of active metabolites in the plant, and in a guinea pig isolated heart (*langerdorff*) and to corroborate its cardiotonic effect. We found presence of cardiotonic glycosides. There was an increase $P < 0.05$ cardiac muscle contractility using fluid extract with hydroalcoholic menstrum (30 %) in doses of 0,71 mg/g and 1,39 mg/g of heart weight. However, dose of 5,13 mg/g provoked arrhythmias. Coronary flux was unchangeable.

Subject headings: OLEANDER/pharmacology; HEART/drug effects; GLYCOSIDES; GUINEA PIGS.

Las enfermedades cardiovasculares constituyen un problema de salud, ha sido la *Insuficiencia Cardíaca* una de las más frecuentes; lo que ha motivado la búsqueda de plantas que contribuyan a su tratamiento. Al *Nerium oleander L.* se le atribuyen propiedades como carditónico¹⁻³ sin embargo, comparado con la Digital ha sido poco estudiado. En el trabajo se hace una caracterización de la droga cruda y del extracto fluido y se ensaya el efecto de este sobre un modelo de corazón aislado de mamífero.

MÉTODOS

MATERIAL VEGETAL

La planta analizada *Nerium oleander L.* se colectó en los alrededores del ISMM "Dr. Luis Díaz Soto", de La Habana

del Este en Ciudad de La Habana, durante los meses de noviembre a marzo.

La parte utilizada fueron las hojas del cultivar flores rosadas, las que se colectaron de forma manual. Las hojas fueron sometidas a secado en estufa con recirculación de aire a una temperatura de 37-40 °C durante 48 h. El material secado fue fragmentado con molino manual, y se obtuvo un producto de partículas gruesas. En la etapa de recolección de las hojas, la planta se encontraba en estadio vegetativo, y fue previamente identificada en el Herbario del Jardín Botánico Nacional con el número HAJB 72070.

TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Se realizó siguiendo el método descrito por el Departamento de Farmacognosia de la Universidad Médica de

¹ Especialista de I Grado en Farmacología.

² Licenciada en Ciencias Farmacéuticas.

Budapest, introducido en nuestro país por el Departamento de Farmacognosia del Instituto de Farmacia y Alimentos de la Universidad de La Habana.

ESTUDIO FARMACOGNÓSTICO

Para realizar el estudio de la droga cruda se siguieron las determinaciones descritas en la NRSP 309.⁴

ESTUDIO DEL EXTRACTO FLUIDO

La preparación del producto fue elaborado con el material vegetal seco y molido y se empleó el método de percolación en un solo paso, como se describe en la NRSP 311.⁵

ANÁLISIS DEL EXTRACTO FLUIDO

El análisis del producto terminado se realizó según la NRSP 312.⁶

ESTUDIO FARMACOLÓGICO

En los experimentos se utilizaron cobayos *Hartley*, machos con peso entre 300 y 400 g procedentes del CENPALAB, y fueron escogidos al azar mediante tabla de números aleatorios del vivario del ISMM "Dr. Luis Díaz Soto". Los animales se sacrificaron con un golpe en la región cervical. El corazón se extrajo, y se depositó en placa Petri con solución *Krebs-Henseleit* modificada, y burbujeada con carbógeno. Una vez terminado el proceso de extracción, el corazón se conectó con una cánula a un sistema de perfusión de *Langerdorff* con una columna de solución de 60 cm de altura. Todos los experimentos se realizaron a 37 °C. Se fijó un hilo de seda 6,0 al ápex del corazón; el órgano se dejó perfundir durante 60 min en solución para su estabilización.⁷ Para el registro de actividad contráctil se fijó el extremo libre del hilo a un transductor fuerza desplazamiento S8-IT (*Nihon-Kohden*), las señales fueron enviadas a un amplificador RP 3 (*Nihon Kohden*) y recogidas en un polígrafo (*Nihon-Kohden*) de 8 canales RM-150, y se recogió en papel milimetrado. La actividad contráctil del miocardio se midió ajustando la tensión de reposo al máximo de la relación longitud/tensión. Después de estabilizado el órgano se tomó un registro control de los valores basales de contractilidad y se midió el flujo coronario, se recogió el goteo del órgano mediante una probeta graduada. Se realizó un registro y se utilizó el solvente hidroalcohólico (etanol -agua al 30 %) en un volumen de 100 mL. La droga a probar consistió en el extracto fluido con menstro hidroalcohólico al 30 % de *Nerium oleander L.*

Se utilizaron las siguientes dosis: 0,52 mg, 1,04 mg y 4,15 mg que equivalen a 0,71 mg/g, 1,30 mg/g y 5,13 mg/g de peso del corazón⁷ las que fueron administradas directamente a través de un catéter a la cánula de perfusión. Para la

selección de las dosis se tuvo en cuenta experimentos previos realizados con el extracto. Al administrar cada dosis de la droga en un volumen de 100 µL se midieron los valores de contractilidad y flujo coronario durante 5 min. Los registros se efectuaron siguiendo el siguiente orden:

1. Basal.
2. Control (etanol 30 %).
3. Estabilización.
4. Primera dosis del extracto. 3 lavados sucesivos.
5. Estabilización.
6. Basal.
7. Segunda dosis del extracto, 3 lavados sucesivos.
8. Estabilización.
9. Basal.
10. Tercera dosis del extracto.

Los datos fueron introducidos en un ordenador, almacenados en una base de datos y procesados mediante un paquete estadístico SPSS.

Después de rechazada la normalidad de los datos y no ser homogéneas sus varianzas se realizó un *test de Kurskal-Wallis* y un *test a posteriori (Bonferroni)*. Se utilizó como criterio de significación un $\alpha = 0,05$. En todas las series experimentales la muestra fue igual a 8 (n= 8).

RESULTADOS

TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Los resultados se muestran en la tabla 1.

ESTUDIO FARMACOGNÓSTICO

El estudio de la droga cruda no mostró variaciones cualitativas entre las diferentes colectas. Los resultados se observan en la tabla 2.

La Descripción Macromorfológica responde a la siguiente descripción:

Hojas cartáceas, lampiñas estrechamente oblongas, de 7 a estas o verticiladas en grupos de 3, al ápice acuminado o agudo.

En el caso de la Descripción Micromorfológica se pudo observar las estructuras aquí descritas:

Cutícula gruesa, 2 capas de células epidérmicas en la haz, 2 capas de parénquima en empalizada que abarcan 1/3 del mesófilo. Parénquima esponjoso laxo. Estomas incluidos en criptas con abundantes pelos adaxialmente. Abundantes cristales de oxalato de calcio en forma de drusas en todo el mesófilo. Haces vasculares colaterales alargados que abarcan todo el mesófilo. Nervio medio prominente en el envés.

TABLA 1. Resultados del tamizaje fitoquímico del *Nerium oleander* (adelfa) cultivar flores rosadas

Ensayos	Extracto Etéreo			
	Metabolitos	T	H	F
<i>Dragendorff</i>	Alcaloides	+++	++	++
<i>Baljet</i>	Lactonas	++	++	++
<i>Borntrager</i>	Quinonas	-	-	-
<i>Liebermann Burchard</i>	Triterpenos y esteroides	+++	+++	+++
<i>Sudan III</i>	Aceites/Grasas	-	-	-
	Extracto etanólico directo			
<i>Ninhidrina</i>	Aminas	++	++	++
<i>Fehling</i>	Azúcares reductores	+++	+++	+++
<i>Baljet</i>	Lactonas	+	+	+
FeC13/SALINA	Fenoles y Taninos	-	-	+/-
	Flavonoides	-	+	
<i>Selivoflo</i>	Saponinas	-	-	-
<i>Rosenheim</i>	Leucoantocianinas	+/-	-	+
	Extracto etanólico indirecto			+/-
<i>Dragendorff</i>	Alcaloides	++	++	+
<i>Liebermann-Burchard</i>	Triterpenos y esteroides	++	++	++
<i>Borntrager</i>	Quinonas	-	-	-
<i>Shinoda</i>	Flavonoides	-	-	+/-
<i>Kedde</i>	Glicósidos cardiotónicos	++	++	++
	Extracto acuoso			
<i>Dragendorff</i>	Alcaloides	-	-	-
<i>Fehling</i>	Azúcares reductores	++	+	+++
FeC13/SALINA	Fenoles y taninos	-	-	-
<i>Prueba del frío</i>	Mucílagos	-	-	-

TABLA 2. Resultados del análisis de la droga cruda *Nerium oleander* L.

Cosechas	Requisitos Macromorf.	Requisitos Micromorf.	Cenizas % Totales	Cenizas % S/Agua	Cenizas % I/Ácido	Contenido Humedad %	Determinac. % ST. SOL.
1	Responde	Responde	6,37	1,85	0,05	14,0	22,16
2	Responde	Responde	8,55	2,90	0,08	12,0	25,11
3	Responde	Responde	6,99	2,45	0,04	13,0	23,23
4	Responde	Responde	7,25	1,91	0,04	13,0	29,93
5	Responde	Responde	6,94	1,86	0,40	9,4	20,86

ESTUDIO DEL EXTRACTO FLUIDO

Se muestran los valores de los ensayos realizados a los diferentes lotes analizados en la tabla 3.

Referente a las Características Organolépticas, estas responden a:

Líquido transparente de color pardo verdoso y olor característico.

Mientras que el análisis Capilar responde a:

Imagen capilar vivamente coloreada, con un corrimiento alto, presentando una franja irregularmente dentada, la subfranja, banda y subbanda no se definen. Al exponer la imagen capilar a los vapores de amoníaco se observó una intensificación del color amarillo, a la luz

ultravioleta no se observaron diferencias en el capilograma.

Responde para la prueba de identificación de glicósidos cardiotónicos al ensayo de *Kedde*.

ESTUDIO FARMACOLÓGICO

El extracto fluido de *Nerium oleander* L. aumentó de forma significativa ($p < 0,05$) la contractilidad del corazón aislado de cobayo con las dosis de 0,71 mg/g y 1,30 mg/g; y se incrementó en 1,12 g y 0,96 g respectivamente cuando se comparó con el valor basal y mensturo, sin embargo, la dosis de 5,13 mg/g provocó arritmias en todos los experimentos. El mensturo utilizado como control no modificó significativamente la variable con respecto al valor basal.

TABLA 3. Resultados de los extractos fluidos

Lotes	Requisitos Organolept.	pH	Índice Refracc.	Densidad Relativa	Análisis Capilar	Sólidos Totales	Contenido Alcohólico	Identific. Glic. Card.
1	Responde	5,9	1,383	1,026	Responde	16,50 %	19,5 %	Responde
2	Responde	6,7	1,362	1,022	Responde	11,70 %	19,5 %	Responde
3	Responde	6,0	1,358	1,007	Responde	9,14 %	27,0 %	Responde
4	Responde	6,0	1,362	1,006	Responde	10,15 %	21,3 %	Responde
5	Responde	6,1	1,358	1,005	Responde	7,87 %	23,7 %	Responde

Los valores medios, desviación estándar y la magnitud de las diferencias se exponen en la tabla 4.

El flujo coronario no varió de forma significativa con el uso de las dosis más bajas utilizadas ($p > 0,05$), ni cuando se administró etanol al 30 %, con la dosis mayor no fue posible medirlo, debido a la arritmia (tabla 5).

TABLA 4. Valores de contractilidad en el corazón aislado de cobayo

Dosis (mg/g)	n	Contractilidad (g)		Significación Estadística
		Media desviación <i>standard</i>	Variación de la contractilidad (g)	
Basal	8	2,36	1,05	- -
Etanol				
30 %	8	2,21	0,90	-0,153 n/s
0,71	8	3,48	1,26	0,21 *
1,30	8	3,33	1,38	0,96 **
5,13	8	-	Arritmias	

n/s No significativo.

* Significativo con respecto al control y al valor basal.

** Significativo con respecto al control, valor basal, y dosis anterior.

TABLA 5. Valores del flujo coronario en el corazón aislado de cobayo

Dosis (mg/g)	n	Flujo coronario mL/min.		Signif. Estad.
		Media	Desviación	
Basal	8	3,96	3,58	n/s
Etanol				
Al 30 %	8	3,58	3,28	n/s
0,71	8	3,12	2,22	n/s
1,30	8	3,28	2,26	n/s
5,13	8		Arritmias	

n/s No significativo

DISCUSIÓN

TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Según los resultados obtenidos del tamizaje fitoquímico se pudo comprobar la presencia de glicósidos cardiotónicos,

que tienen especial interés para el trabajo pues se le atribuye la acción encontrada en el *Nerium oleander L.*⁸ Es importante señalar que la planta posee una cantidad de alcaloides que pudieran contribuir a su toxicidad.⁹

No se encontraron diferencias cualitativas entre los resultados del tamizaje de las diferentes partes de la planta, lo que constituye una ventaja para su uso pues aumenta el rendimiento y facilita su recolección.

El tamizaje, coincidió con el de Robaina y colaboradores¹⁰ excepto en que estos investigadores no refirieron haber encontrado alcaloides ni aminas y sí la existencia de saponinas, lo que pudiera estar determinado porque el fraccionamiento utilizado en el presente estudio, explora la presencia de éstas en el extracto alcohólico y no en el acuoso, donde pudiera también encontrarse.

DROGA CRUDA

Por los resultados obtenidos de los lotes analizados se proponen los rangos de valores siguientes:

Cenizas totales	Máximo 9,0 %
Cenizas solubles en agua	Máximo 3,0 %
Cenizas insolubles en ácido	Máximo 1,0 %
Contenido de humedad (Gravimétrico)	Máximo 15,0 %
Determinación sustancias solubles	Mínimo 15,0 %

Las descripciones macro y micromorfológicas responden a las características descritas en los resultados.

EXTRACTO FLUIDO

Si se tiene en cuenta los lotes de extracto fluido estudiados se infieren los siguientes rangos de valores:

pH	De 5,9 - 6,9
Índice de refracción	De 1,358 - 1,383
Densidad relativa	De 1,001 - 1,030
Sólidos totales	Mínimo 7 %
Contenido alcohólico	Mínimo 15 %

Las características organolépticas, análisis capilar e identificación de los glicósidos cardiotónicos cumplen en cada caso con lo descrito en el acápite anterior.

ESTUDIO FARMACOLÓGICO

El *Nerium oleander L.* es una planta muy estudiada desde el punto de vista toxicológico.¹¹⁻²¹ Su composición y estructura química se ha informado en numerosos trabajos,^{8,22,23} aunque en relación a la Digital sus propiedades farmacológicas (incluso sobre el corazón) están poco investigadas.

En el trabajo se observó que el extracto fluido de *Nerium oleander L.* con menstro hidroalcohólico al 30 %, incrementó de forma significativa la contractilidad del corazón aislado de cobayo, lo que corrobora la acción que como cardiotónico se le atribuye a la planta y los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico del extracto.

Las dosis menores incrementaron la respuesta contráctil y la mayor provocó arritmias. El menstro etanólico al 30 % utilizado como control, no modificó significativamente la contractilidad en el modelo estudiado cuando se comparó con el valor basal, por lo tanto, la acción puede atribuirse a los metabolitos activos del vegetal presentes en el extracto y no al menstro. El flujo coronario no fue modificado en las dosis empleadas, hecho, que ocurrió de manera similar con el etanol al 30 %. Aunque no se encontraron informes en la literatura revisada donde se evalúa experimentalmente de forma similar la acción cardiotónica de esta especie, sin embargo, Carvajal y colaboradores informaron un aumento significativo de la contractilidad en la aurícula aislada de cobayo cuando utilizaron una decocción de las hojas de la especie.²⁴

La planta posee en su composición glicósidos cardiotónicos lo que hace atribuir el efecto inotrope positivo a éstos. Algunos autores²⁵ han estudiado el efecto de la ouabaína sobre el corazón aislado de cobayo y conejo, y han utilizado la técnica de *Langerdorff*, y han encontrado un aumento de la contractilidad del órgano sin incrementos del flujo coronario lo que coincide con los resultados obtenidos en esta investigación.

CONCLUSIONES

El tamizaje realizado al *Nerium oleander L.* demostró la presencia de glicósidos cardiotónicos y de alcaloides, que pudieran ser los responsables de la acción farmacológica y la toxicidad de la especie.

El extracto fluido de *Nerium oleander L.* elaborado con un menstro hidroalcohólico al 30 % en dosis de 0,71 mg/g y 1,30 mg/g de peso de corazón aumentó de forma significativa la contractilidad del corazón aislado de cobayo, y no modificaron el flujo coronario, la dosis de 5,13 mg/g provocó arritmias.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hoffman BFA, Bigger JTL. Digital y otros glucósidos cardiotónicos relacionados. En: Goodman y Gilman eds. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 4 ed. México, DF. Interamericana, 1974:721-51.
2. Cook EF, Martín EW. Farmacia práctica de Remington. 2 ed. La Habana: 1972: (Edición Revolucionaria) Instituto Cubano del libro 843-846.
3. Roig JT. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas. La Habana: Editorial Ciencia y Técnica, 1988:693-694.
4. NRSP 309. Medicamentos de origen vegetal. Droga Cruda. Métodos de ensayos. Ciudad Habana: MINSAP; 1992.
5. NRSP 311. Medicamentos de origen vegetal. Extractos y tinturas. Procesos tecnológicos. Ciudad Habana: MINSAP; 1992.
6. NRSP 312. Medicamentos de origen vegetal. Extractos y tinturas. Métodos de ensayos. MINSAP. Ciudad Habana, 1992.
7. Doring HJ, Dehnert H. The isolated perfused Warn-Blooded. Heart according to Langendorff. En: Doring C ed. The isolate perfuse heart. Freiburg: Biomess Technik Verlag, 1988:1-129.
8. Boisio ML, Espósito M, Merlo M. Separation and identifying features of the cardiac aglycones and glycosides of *Nerium oleander* flowers by TLC. *Minerva Med* 1993;84(11):627-32.
9. Cuéllar A: Alcaloides. En: Cuéllar A. Química de los fármacos naturales. La Habana: Ministerio de Educación Superior, 1983:253-96.
10. Robaina C. Tamizaje fitoquímico de plantas medicinales referidas como tóxicas. *Plant Med* 1985;5:97-102.
11. Cheung K, Hinds JA, Duffy P. Detection of poisoning by planorigin cardiac glycoside with the Abbott TDX analyzer. *Clin Chem* 1989;35:295-7.
12. Mesa MD. Digitalis poisoning from medicinal herbs two different mechanisms of production. *Rev Esp Cardiol* 1991;44:347-50.
13. Romano GA, Mombelli G. Poisoning with oleander leaves. *Sch Weiz Med Wochenschr* 1990;120:596-7.
14. Alfonso HA. Intoxication due to *Nerium oleander* in geese. *Vet Hum Wochenschr* 1994;36(1):47.
15. Gorne S, Frohli P. A case from practice (261). Poisoning with digoxin like glycoside following eating of oleander leaves. *Schweiz Rundsch Med Prax* 1993;82(4):121-2.
16. Rezakhani A, Mahan M. Oleander poisoning in cattle of the fars province Iran. *Vet Hum Toxicol* 1992;34(6):549.
17. Safadi R, Levy I, Amitai Y, Caraco Y. Beneficial effect of digoxin specific Fab antibody fragments in *Nerium oleander* intoxication. *Arch Intern Med* 1995;155(19):2121-5.
18. Langford SD, Boor PJ. Oleander toxicity and examination of human and animal toxic exposures. *Toxicology* 1996;109(1):1-13.
19. Jaspersen SR, Theus L. Serious plant poisonings in Switzerland 1966-1994. Case analysis from the Swiss Toxicology Information Center. *Schweiz Med Wochenschr* 1996;126(25):1085-98.
20. Nishioka S de A, Resende ES. Transitory complete atrioventricular block associated to ingestion of *Nerium oleander*. *Rev Assoc Med Bras* 1995;41(1):60-2.
21. Marchan-Carranza E, Gijón-Rodríguez J, Marquez-Moreno MD. Digitalis poisoning by the leaves of *Nerium oleander*. *Rev Clin Esp* 1995;7:516.
22. Hammer HR. Fármacos cardiovasculares. En: Foye OW. Principios de Química Farmacéutica.
23. Weniger B, Robineau L. Seminario Tramil 5 & 6. Investigación científica y uso popular de plantas medicinales en el Caribe. Editora Tele-3, Guatemala 1992:253-5.
24. Carvajal D, Cassaco A, Arrozabala L. Evaluación farmacológica de extractos de plantas con reportes de medicina popular como cardiotónicos, hipotensores o antiarrítmicos. *Plant Med* 1983;3:15-22.
25. Raddino R. Effects of amrinone on isolated heart preparations: comparative study with other inotropic agents. *Cardiología* 1991;36(9):729-34.

Recibido: 30 de marzo de 1998. Aprobado: 20 de diciembre de 1998. Dr. Alfredo Céspedes Valcárcel. ISMM «Dr. Luis Díaz Soto». Avenida Monumental y Carretera del Asilo. Habana del Este. Ciudad de La Habana.