

## TRABAJOS CIENTÍFICOS ORIGINALES

# INTERACCIONES DE CALAGUALA (POLYPODIUM LEUCOTOMOS) CON PENTOBARBITAL SÓDICO O ETANOL

*Dr. Pablo Cambar (\*), Dr. Mario V. Mendoza (\*), Sr. Raúl C. Navarro (\*)*

El objetivo del presente estudio fue determinar si existen interacciones entre las fracciones hidrosoluble y liposoluble (CF4 + CF3) de la Calaguala y algunas drogas como los barbitúricos y etanol. Las fracciones CF4 + CF3 administradas con 24 horas de antelamiento redujeron el tiempo de anestesia producido por el Pentobarbital Sódico, barbitúrico que se biotransforma por oxidación a nivel hepático, pero lo incrementaron sustancialmente en ratones que recibieron Tetracloruro de Carbono (CCl<sub>4</sub>), hepatotóxico que para ejercer sus acciones deletéreas se biotransforma por oxidación en el metabolito reactivo el radical libre Triclorometil (CCl<sub>3</sub>) destructor del retículo - endoplasmático y otras estructuras celulares «j. La administración de CF4 + CF3 con 24 horas de antelación disminuyó los casos de pérdida del reflejo de enderezamiento producidas por etanol; éste último se biotransforma por oxidación a nivel de hígado para producir acetaldehído. El examen neurofarmacológico de ratones que solo recibieron CF4 + CF3 no reveló efectos estimuladores o depresores del sistema nervioso central. Los resultados de esta serie de experimentos sugieren que las fracciones CF4 + CF3 pueden ser inductoras del sistema microsomal hepático; no obstante se necesitan evidencias bioquímicas directas para confirmar o rechazar esta hipótesis de trabajo.

### MATERIAL Y MÉTODO

Se usaron 135 ratones albinos de 20 a 30 gramos de peso corporal subdivididos en varios grupos,

los controles recibieron aceite de oliva (0.05 cc/10 g. de peso) y los tratados una emulsión de CF4 + CF3 a la dosis de 60 y 180 mgs/kg. p.o. Se midió el tiempo de anestesia \*2\> de inducción e inicio de la locomoción producido por pentobarbital sódico inyectado a la dosis de 40 mgs/kg. I. P. a los 20 minutos, 24 y 48 horas después de haber administrado las fracciones CF4 + CF3. En otros 43 ratones divididos en ocho grupos, además de aceite de oliva ó CF4 + CF3 se inyectó tetracloruro de carbono a las dosis de 0.3 y 0.9 cc/kg. de peso y 24 horas después se midió el tiempo de anestesia.

Un lote adicional de 280 ratones, además de recibir CF4 + CF3 a las dosis de 20, 60 y 180 mgs/kg. p.o. con 24 y 48 horas de antelamiento, se les administró p.o. etanol en agua al 47.5o/o a las dosis de 5, 10, 15 y 20 ml/kg. y se cuantificó la pérdida del reflejo de enderezamiento.

En 30 ratones se practicó el ensayo neurofarmacológico de Irwin.

Los ratones controles recibieron aceite de oliva, otros CF4 + CF3 a las dosis usuales anotando las observaciones por dos horas. Varias drogas se usaron para estandarizar la técnica: atropina, diazepam, anfetaminas, efedrina, pentilenetrazol, etc.

Según la necesidad se usaron varios métodos para procesar los datos: t de Student, análisis de varianza y de proporciones.

(\*) Unidad de farmacología Centro de Investigación y Desarrollo. Corporación Nacional de Inversiones (CONADI).

## RESULTADOS

EXPERIMENTOS CON PENTOBARBITAL  
SÓDICO.

La dosis de 180 mgs/kg. de CF4 + CF3 administrada con 24 horas de antelamiento redujo el tiempo

de anestesia producido por pentobarbital sódico. Este efecto no se observó cuando las fracciones se administraron con 20 minutos ó 48 horas de antelamiento. La administración de CF4 + CF3<sup>mas</sup> tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>) prolongó sustancialmente el tiempo de anestesia producido por el pentobarbital. (Ver Tabla No. "1", "2" y "3").

TABLA No. 1

TIEMPO DE ANESTESIA PRODUCIDO POR PENTOBARBITAL SODICO EN RATONES CONTROLES  
O TRATADOS PREVIAMENTE CON CF4 + CF3 (24 HORAS DE ANTELAMIENTO).

| PROCEDIMIENTO<br>(DOSIS)                                                         | NUMERO DE<br>RATONES | PROMEDIO + ERROR STANDARD DEL PROMEDIO. |                                     |                                      |
|----------------------------------------------------------------------------------|----------------------|-----------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
|                                                                                  |                      | TIEMPO DE INDUC-<br>CION. (MINUTOS)     | TIEMPO DE ANES-<br>TESIA. (MINUTOS) | INICIO DE LOCOMO-<br>CION. (MINUTOS) |
| Aceite de oliva p.o.<br>(0.05 cc./10 g) 24<br>horas antes de pen-<br>tobarbital. | 16                   | 4.3 ± 0.45                              | 42.5 ± 6.8                          | 54.3 ± 7.43                          |
| CF4 + CF3 p.o.<br>(60 mg/kg) 24<br>horas antes de pen-<br>tobarbital.            | 8                    | 4.2 ± 0.37                              | 33.3 ± 7.5                          | 44.6 ± 6.8                           |
| CF4 + CF3 p.o.<br>(180 mg/kg) 24<br>horas antes de pen-<br>tobarbital.           | 10                   | 5.4 ± 0.78*                             | 27.6 ± 1.82**                       | 36.9 ± 1.3**                         |

\* p 0.01 comparado con controles

\*\* p 0.001 comparado con controles.

La administración de 180 mg/kg de CF4 + CF3 por vía oral reduce el tiempo de anestesia y el de inicio de locomoción comparado con los controles.

TABLA No. 2

TIEMPO DE ANESTESIA PRODUCIDO POR PENTOBARBITAL SODICO EN RATONES CONTROLES O TRATADOS 24 HORAS ANTES CON CF4 + CF3 Y TETRACLORURO DE CARBONO "CCl<sub>4</sub>" (0.3 ml/kg, p. o.).

| PROCEDIMIENTO (DOSIS)                                           | NUMERO DE RATONES | PROMEDIO + ERROR STANDARD DEL PROMEDIO. |                                |                                  |
|-----------------------------------------------------------------|-------------------|-----------------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
|                                                                 |                   | TIEMPO DE INDUCION. (MINUTOS)           | TIEMPO DE ANESTESIA. (MINUTOS) | INICIO DE LOCOMOCION. (MINUTOS). |
| Aceite de oliva (0.05 cc./10 g).                                | 11                | 4.51 ± 0.31                             | 28.4 ± 4.41                    | 41                               |
| Aceite de oliva (0.05 cc./10 g) + CCl <sub>4</sub> (0.3 ml/kg). | 5                 | 5.9 ± 0.40                              | 37.6 ± 12.87                   | 66.2 ± 33.9                      |
| CF4 + CF3 (60 mg/kg) + CCl <sub>4</sub> (0.3 ml/kg).            | 4                 | 5.4 ± 0.55                              | 32 ± 2.38                      | 47.2 ± 11.5                      |
| CF4 + CF3 (180 mg/kg) + CCl <sub>4</sub> (0.3 ml/kg).           | 5                 | 3                                       | 95 ± 24.2*                     | 111.4 ± 22.3*                    |

\* Diferencia estadísticamente significativa comparado al grupo que solo recibió aceite de oliva, p = 0.01. La administración de CF4 + CF3 a la dosis de 180 mg/kg aumentó el tiempo de anestesia y de inicio de locomoción, más que el Tetracloruro de Carbono (CCl<sub>4</sub>) solo.

TABLA No. 3

TIEMPO DE ANESTESIA PRODUCIDO POR PENTOBARBITAL SODICO EN RATONES CONTROLES Y TRATADOS 24 HORAS ANTES CON CF4 + CF3 Y TETRACLORURO DE CARBONO "CCl<sub>4</sub>" (0.9 ml/kg, p.o.)

| PROCEDIMIENTO (DOSIS).                                           | NUMERO DE RATONES | PROMEDIO + ERROR STANDARD DEL PROMEDIO |                                |                                 |
|------------------------------------------------------------------|-------------------|----------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
|                                                                  |                   | TIEMPO DE INDUCION. (MINUTOS)          | TIEMPO DE ANESTESIA. (MINUTOS) | INICIO DE LOCOMOCION. (MINUTOS) |
| Aceite de oliva (0.05 cc./10 g).                                 | 11                | 4.51 ± 0.31                            | 28.4 ± 4.41                    | 41 ± 5.60                       |
| Aceite de oliva (0.05 cc./10 g) + CCl <sub>4</sub> (0.9 ml/kg.). | 7                 | 4.71 ± 0.29                            | 158.6 ± 62.6*                  | 171 ± 64.8*                     |
| CF4 + CF3 (60 mg/Kg) + CCl <sub>4</sub> (0.9 ml/kg.).            | 6                 | 4.1 ± 0.15                             | 268.1 ± 18.6**                 | 280.0 ± 22.2*                   |
| CF4 + CF3 (180 mg/kg) + CCl <sub>4</sub> (0.9 ml/kg).            | 5                 | 9.6 ± 5.86*                            | 183.4 ± 50.2**                 | 241.4 ± 28.2*                   |
| (1 RATON MURIO EN ESTE GRUPO).                                   |                   |                                        |                                |                                 |

\* p = 0.01 aceite de oliva versus aceite de oliva + Tetracloruro de Carbono (CCl<sub>4</sub>).

\*\* p = 0.001 aceite de oliva versus (CF4 + CF3).

El Tetracloruro de Carbono (CCl<sub>4</sub>) prolonga el tiempo de narcosis y el inicio de locomoción pero el efecto es más pronunciado al administrar también CF4 + CF3 por vía oral.

## EXPERIMENTOS CON ETANOL

Se observó una reducción de la pérdida del reflejo de enderezamiento que se produce la administración oral de etanol al 47.5o/o a las dosis de 10 y 15

ml/kg. p. o. cuando con un antelamiento de 24 horas se dieron las fracciones CF4 + CF3. El efecto fue más evidente a las dosis de 180 mgs/kg. de CF4 + CF3. (Ver Tabla No. "4").

TABLA No. 4

PERDIDA DEL REFLEJO DE ENDEREZAMIENTO PRODUCIDA POR ETANOL EN RATONES HEMBRAS QUE RECIBIERON CF4 + CF3 CON 24 HORAS DE ANTELACION.

| PROCEDIMIENTO<br>(DOSIS)           | NUMERO DE RATONES QUE PERDIERON EL REFLEJO DE ENDEREZAMIENTO<br>AL DAR DIFERENTES DOSIS DE ETANOL AL 47.5o/o P.O. (DORMIDOS o/o). |                 |                  |                            |
|------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|------------------|----------------------------|
|                                    | 5 ml/kg.                                                                                                                          | 10 ml/kg.       | 15 ml/kg.        | 20 ml/kg.                  |
| Aceite de oliva<br>(0.05 cc/10 g). | 0/10<br>(0o/o)                                                                                                                    | 5/10<br>(50o/o) | 7/10<br>(70o/o)  | 6/8<br>(75o/o) (Uno murió) |
| CF4 + CF3<br>(20 mg/kg).           | 0/10<br>(0o/o)                                                                                                                    | 0/10*<br>(0o/o) | 0/10*<br>(10o/o) | 5/8<br>(62.5o/o)           |
| CF4 + CF3<br>(60 mg/kg).           | 0/10<br>(0o/o)                                                                                                                    | 0/10*<br>(0o/o) | 4/10<br>(40o/o)  | 6/8<br>(75o/o)             |
| CF4 + CF3<br>(180 mg/kg).          | 0/10<br>(0o/o)                                                                                                                    | 0/10*<br>(0o/o) | 1/10*<br>(10o/o) | 6/8<br>(75o/o)             |

\* Aparentemente la administración de CF4 + CF3 disminuyó la pérdida del reflejo de enderezamiento producida por el etanol.

## ENSAYO NEUROFARMACOLOGICO DE IRWIN

No se observó ninguna diferencia entre controles y tratados en los parámetros estudiados: conciencia humor, actividad motora, excitación del sistema nervioso central, posición, incoordinación motora, tono muscular, reflejos y sistema nervioso autónomo (4).

## DISCUSIÓN

El objetivo principal del presente estudio fue determinar si la administración de una emulsión de CF4 + CF3 en aceite de oliva — fracciones hidro y liposoluble de la Calaguala— pueden incrementar o disminuir el tiempo de anestesia producido por el pentobarbital sódico, barbitúricos que se bio-transforma a un nivel hepático por oxidación en

ácido pentobarbital - carboxílico e hidroxipentobarbital. En la primera fase de esta serie de comunicaciones progresivas se observó únicamente una prolongación del tiempo de latencia cuando 20 minutos antes de administrar el barbitúrico se dio la droga. Actualmente con el propósito de descartar algún efecto retardado de las fracciones, se inyectó el pentobarbital 24 y 48 horas después de dar 60 y 180 mgs/kg de la droga a varios grupos de ratones. Se midió el tiempo de latencia, el de anestesia y se observaron los animales hasta que fueron capaces de caminar. La administración de la droga a la dosis de 180 mgs/kg 24 horas antes del barbitúrico disminuyó significativamente el tiempo de anestesia y locomoción, prolongando también el tiempo de latencia. El efecto no se produce a las 48 horas después de administrar la dosis única de las fracciones.

Para estudiar de una manera indirecta la posibilidad de que CF4 + CF3 tuviese un efecto inductor del sistema microsomal hepático ó bien para detectar hepatoprotección ó hepatotoxicidad, en una serie adicional de experimentos se combinó la droga con tetracloruro de carbono (CCl4). Este último, hepatotóxico clásico, se biotransforma en un metabolito reactivo - el radical libre triclorometil (CCl3) - formado por la ruptura homolítica del CCl4. Esta biotransformación ocurre por oxidación en el retículo endoplásmico; el radical libre altera los lípidos de las membranas, citocromo P-450 y otros importantes componentes celulares produciendo muchas lesiones, por ejemplo esteatosis hepática y necrosis centrolobular hepática. Las reglas inductoras del sistema microsomal hepático pueden aumentar la biotransformación del tetracloruro de carbono (CCl4) en (CCl3) tal es el caso del fenobarbital, en cambio las drogas inhibitoras de dicho sistema pueden disminuir los efectos tóxicos del CCl4, verbigracia el beta - dietilaminoetil - difenilpropil - acetato (SKF-525-A). La combinación de la droga con CCl4 prolongó significativamente el tiempo de anestesia y locomoción, mucho más que los controles de aceite de oliva o de aceite de oliva más CCl4 sobre todo a la dosis de 180 mgs/kg.; puntualizando el hecho de que no existía entonces diferencia en el tiempo de anestesia y locomoción producido por el pentobarbital si se comparan los grupos de aceite de oliva con el aceite de oliva más CCl4. Como la dosis de 0.3 ml/kg. de CCl4 en dicho grupo tuvo poco efecto sobre el tiempo de anestesia a las 24 horas de ser administrado, en otro lote de animales se triplicó la misma (0.9 ml/kg. p.o.) notándose en todos los grupos tratados con el hepatotóxico una prolongación del tiempo de anestesia y locomoción sobre todo en los grupos tratados con CF4 + CF3 y CCl4 (aún más que el grupo que solo recibió aceite de oliva o aceite de oliva + CCl4).

En el grupo de 180 mgs/kg., en el cual un ratón murió después de inyectar el pentobarbital sódico, también el tiempo de inducción y de lactancia estuvo prolongado. La dosis de 60 mgs/kg de CF4 + CF3 y 0.9 ml/kg de CCl4 fue mas efectiva en prolongar los tiempos de anestesia y de locomoción que la de 180 mgs/kg. Aparentemente pues, existe la posibilidad de interacciones que no se limitan únicamente a la oxidación del CCl4 o del pentobarbital. Surgió entonces la necesidad de descartar un efecto estimulante del sistema nervioso central producido por la droga (CF4 + CF3); sin embargo cuando la misma se administró 20 minutos antes que el barbitúrico, no disminuyó el tiempo de anestesia como usualmente ocurre con los analgésicos que no son inhibidores del sistema microsomal hepático.

El ensayo neurofarmacológico de Irwin no reveló ninguna diferencia entre los ratones controles y los tratados en lo que se refiere a conciencia, humor, actividad motora, excitación del sistema nervioso central, posición, incoordinación motora, tono muscular, reflejos y sistema nervioso autónomo. No se detectaron efectos estimuladores centrales de las fracciones CF4 + CF3 con pentobarbital sódico.

El etanol, como los barbitúricos, interaccionan con un número elevado de drogas; esto también ocurrió con las fracciones CF4 + CF3, puesto que observamos que las mismas disminuyen la pérdida del reflejo de enderezamiento producida en ratones por etanol al 47.5o/o p.o. a la dosis de 10 y 15 ml/kg.

Las interacciones observadas del pentobarbital sódico, tetracloruro de carbono, como los del etanol, sugieren que las fracciones CF4 + CF3 de la Calaguala producen una inducción del sistema microsomal hepático, hipótesis de trabajo que podrá ser confirmada o rechazada con estudios Bioquímico - Farmacológicos.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Curtis, D. K.: "NON METALLIC ENVIROMENTAL TOXICANTS; AIR POLLUTIONS SOLVENTS, VAPORS AND PESTICIDES". In Goodman, L. S. and Gilman, A. (Eds.). "THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS", 1980, Sixth Ed. Mac Millan Publishing Co., Inc. New York. pp. 1645.
- 2.- Barastegui, Almagro, C: "ESQUEMA Y PRACTICAS DE FARMACOLOGÍA". 1977, Ed. Espax. España. pp. 63.
- 3.- Turner, R. A.: "DEPRESSANTS OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM. IN SCREENING METHODS IN PHARMACOLOGY". 1965. Academic Press, London, New York. pp. 69.
- 4.- Irwin, S.: "DRUG SCREENING AND EVALUATION OF NEW COMPOUNDS IN ANIMALS". In Nodine, J. H.; and Siegler, P. E. (Eds.): "ANIMAL AND CLINICAL TECHNIQUES IN DRUG PHARMACEUTICAL EVALUATION". 1964. Chicago Year Book, Medical Publishers, Inc. pp. 36-54