

DIRECTOR

Prof. MARCO A. IRIARTE
Decano de la Facultad

COMITE DE REDACCION

Prof. Luis Patiño-Camargo
Prof. Jorge Bejarano
Prof. Santiago Triana Cortés

ESTUDIOS SOBRE LA FISOSTIGMINA (ESERINA) Y PRODUCTOS DERIVADOS

Por *Gonzalo Montes D.*

(Trabajo desarrollado en el Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Harvard).

En los últimos años se han desarrollado trabajos que muestran claramente cómo los efectos del sistema nervioso parasimpático se producen mediante la liberación de una substancia química en las terminaciones nerviosas, la cual es directamente responsable de la excitación de las células inervadas. Esta substancia tiene acción idéntica a la de la acetilcolina.

Como trabajos básicos en el descubrimiento de este mecanismo deben citarse los de Loewi, quien probó que la estimulación del vago en el corazón aislado de la rana producía acetilcolina, mientras que la estimulación del simpático liberaba una substancia semejante a la adrenalina. Este descubrimiento fué luego confirmado por otros investigadores en otros órganos aislados y ha servido para sentar la teoría hormonal del control autónomo.

Según esta teoría, el vago inhibía el corazón de la rana en los experimentos de Loewi, no por trasmisión de un estímulo físico del nervio al músculo sino causando la liberación de acetilcolina en la unión neuromuscular; esta substancia era la responsable de la inhibición por su acción sobre las células musculares. Esto nos explica porque cuando se estimula el vago transcurre un lapso notorio antes de que su acción sea efectiva y, así mismo, cuando se interrumpe el estímulo también transcurre otro lapso antes de que su acción cese.

La acción de la acetilcolina liberada en las terminaciones nerviosas es estrictamente local debido a la presencia, en la sangre, de una enzima poderosa que destruye rápidamente cualquier cantidad de acetilcolina que se difunda desde el sitio de liberación; esta misma enzima, llamada *colinesterasa*, evita que la acción local se prolongue indebidamente, más allá de lo correspondiente al estímulo vagal.

La *colinesterasa* es inactivada por la *fisostigmina* (*eserina*), lo cual explica claramente porqué la acción de esta droga es semejante a la que produciría una excitación prolongada del vago.

II

En una serie de experimentos encaminados a estudiar las transformaciones de la fisostigmina *in vitro* e *in vivo*, Kraye, Straus y Plachte (*), y después Straus y Plachte, observaron la inactivación progresiva de esta droga en relación con su capacidad para inhibir la colinesterasa. Encontraron que en los medios estudiados la fisostigmina quedaba inactivada por completo al cabo de cierto tiempo, después recobraba parcialmente su actividad, para luego perderla definitivamente.

Los mencionados investigadores determinaban cuantitativamente la cantidad de fisostigmina presente en una solución, por el grado de inhibición que ésta producía sobre la colinesterasa, usando la relación que previamente habían determinado de la actividad de la colinesterasa en soluciones de fisostigmina de concentración conocida.

Con este método encontraron que la destrucción de fisostigmina en una solución tampón de fosfatos, de pH fisiológico y a 38° C, se efectuaba en proporción medible por unidad de tiempo: la solución perdía su capacidad de inhibir la colinesterasa en treinta días, pero al cabo de sesenta días había evidencia de retorno parcial de esta capacidad.

En forma semejante, cuando se medía la actividad de la colinesterasa del suero de caballo en solución de bicarbonato-Ringer con fisostigmina, se encontró que después de una inhibición inicial esta actividad volvía a lo normal al cabo de 17 horas, para caer a un 90% al cabo de cierto tiempo.

Otra observación, de más significación biológica, fué hecha en perros anestesiados con Nembutal a los cuales se aplicó una dosis intravenosa de fisostigmina. La actividad de la colinesterasa del suero de estos animales volvía lentamente a lo normal, después del período de inhibición completa encontrado en seguida de la inyec-

(*) De la Universidad de Harvard.

ción; caía luego a un 90% y finalmente recobraba su nivel primitivo.

Por otra parte, Mc George encontró que muy poca cantidad de fisostigmina se eliminaba por la orina, lo cual está de acuerdo con las experiencias de Kraye; éste observó que la ligadura de los vasos renales no influía en la velocidad del restablecimiento de la colinesterasa en el suero de los perros inyectados con fisostigmina.

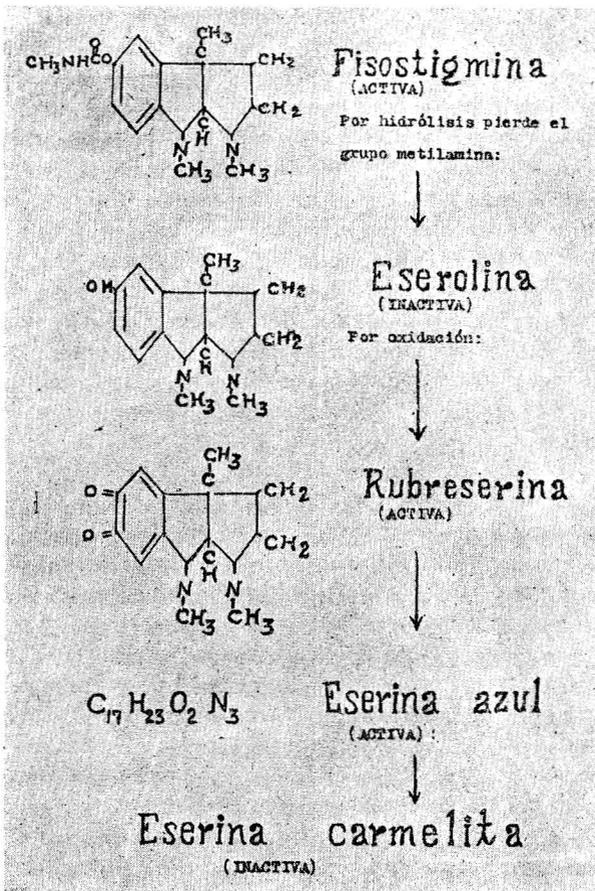
Del conjunto de estas observaciones se concluyó que alguno de los productos de desintegración de la fisostigmina debía ser capaz de inhibir la colinesterasa, ya que después de una fase de inactividad reaparecían las propiedades de la droga. El esclarecimiento de este punto era muy importante en relación con el problema del metabolismo de la fisostigmina, pues se veía claramente que el organismo se deshacía de ella destruyéndola, no por excreción.

III

Las soluciones acuosas de fisostigmina son inestables, y sus productos de descomposición son substancias coloreadas más estables; esto explica el interés que de tiempo atrás ya habían despertado. Sin embargo, son pocas las investigaciones que se han publicado sobre la actividad biológica de estos productos derivados de la fisostigmina. Eber los encontró inactivos.

El jefe del Departamento de Farmacología de la Escuela Médica de Harvard, doctor Kraye, confió al doctor Sidney Ellis y al que suscribe este informe, el estudio de los productos resultantes de la descomposición de la fisostigmina. El primero se encargó principalmente del estudio químico y tocóle al suscrito estudiar la actividad farmacodinámica de esos productos.

Las transformaciones químicas pueden resumirse así:



De estos productos, la *eserolina* es inactiva; la *rubreserina* y la *eserina azul* son activas.

Este hallazgo explica la depresión secundaria de la colinesterasa observada en las experiencias de Krayer, Straus y Plachte.

Restaba, pues, medir la actividad de estos productos por comparación con la fisostigmina, su precursor. Con este fin se usaron el *intestino aislado del conejo* y el *músculo recto abdominal de la rana*. En el primero, la comparación se establecía por el grado de aumento del tono intestinal: en el segundo, se comparaba el grado de aumento de la sensibilidad a la acetilcolina, producido por la fisostigmina y sus derivados.

Se ensayaron para este efecto el Sulfato de Fisostigmina: (C₁₅H₂₁N₃O₂)₂H₂SO₄;—el Monohidrato de Rubreserina: (C₁₃H₁₆N₂O₂)H₂O; y el Dihidrocloreuro de Eserina Azul: C₁₇H₂₃O₄N₃—2HCl

En el intestino del conejo se obtuvieron los siguientes resultados:

Sol. Fisostigmina al 1: 100,000 mayor que sol. Rubres. al 1: 50,000.

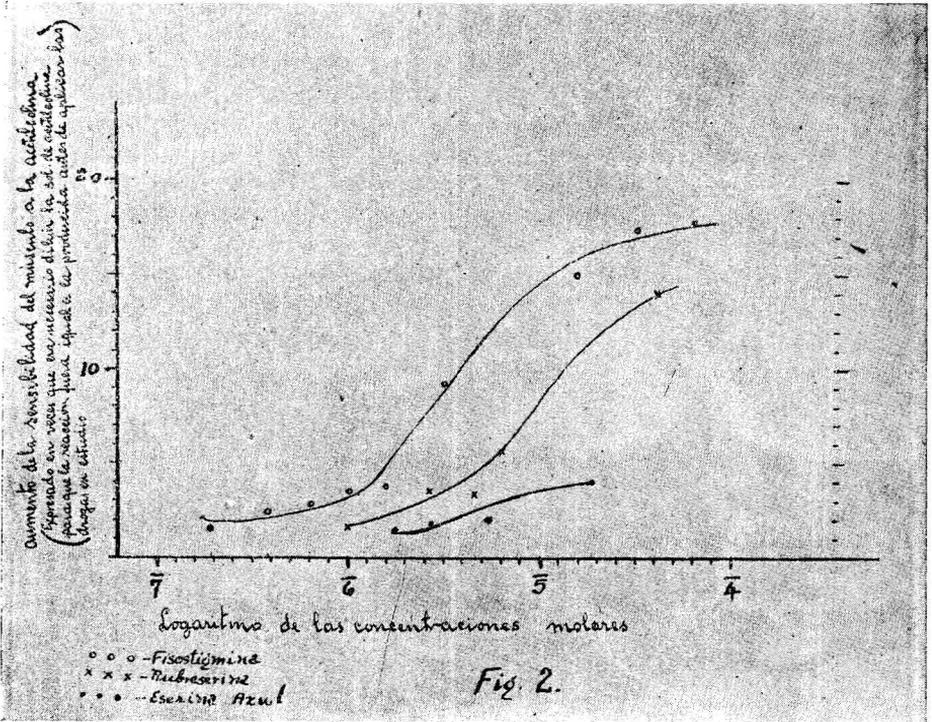
Sol. Fisost. al 1: 100,000 menor que Sol. Rubreserina al 1: 33,000.

La solución de Fisostigmina al 1: 100,000 era aproximadamente igual a una de Rubreserina al 1: 40,000, es decir, era dos y media veces más activa.

La misma solución de Fisostigmina al 1: 100,000 resultó ser más activa que una de Eserina Azul al 1: 40,000; menos que una al 1: 22,000 y aproximadamente igual a una de Eserina Azul al 1: 29,000. Es decir, la Fisostigmina era tres veces y media más activa que la Eserina Azul.

En el músculo recto abdominal de la rana la investigación se hizo con varias diluciones de cada una de las sustancias, de manera que fué posible determinarles la curva de actividad respectiva.

Como las diluciones se fueron aumentando en proporciones muy grandes, para el dibujo de las curvas se usaron los logaritmos de las concentraciones molares. (Fig. 2).



Con cada dosis se hicieron varios experimentos, nunca menos de cinco, con el objeto de evitar, hasta donde fuera posible, el error debido a variaciones individuales.

Las soluciones al millonésimo de estas substancias, aumentaron la sensibilidad del músculo de la rana a la acetilcolina así:

Eserina Azul (dihidrocioruro)	1.9 veces
Rubreserina (monohidrato)	3.3 veces
Fisostigmina (sulfato)	3.8 veces

Bibliografía.

Ellis-Plachte. — Studies on physostigmine and related compounds. Comunicación al Congreso de las Sociedades Americanas de Biología Experimental-Federation Proceedings, Vol. 1, N° 1, Marzo de 1942.

Krayer, Straus, Plachte. — Estudios en el Departamento de Farmacología de la Universidad de Harvard. 1941.

Hunt R. — Renshaw-Ethers of choline and allied compounds. Journ. of Pharmacol. & Exper. Therapeut. 1936, N° 58, p. 140.

Hall, G. E., Ettinger, C. H. — Effect of regular injections of acetil-coline upon colinesterase activity of serum. Journ. of pharm. & Exp. Therapeutics. 1937, N° 59, p. 29.