

TITULACION DE DIFERENTES PREPARADOS DE DIGITALIS PURPUREA Y DIGITALIS LANATA POR EL METODO GATO *

por el doctor
LEON DE SOLDATI

La digital ha sufrido con el correr del tiempo una serie de estudios que han dado como resultado la obtención de diversos derivados cuyo uso se ha generalizado entre nosotros.

Con el objeto de establecer una vez más su actividad biológica en los animales de laboratorio, para luego practicar ensayos clínicos, motivo de otra comunicación, hemos realizado los experimentos que luego se detallan.

Recordemos primero brevemente algo de lo esencial en la química de la digital.

La Digital y sus Glucósidos

La digital, denominada así por Fuchs en 1542, pertenece al género de las plantas bienales y perennes de la familia de las Escrofulariáceas. Si bien ella aparece mencionada en los escritos de los médicos de Gales a mediados del siglo XIII, fué a partir de 1785 que se extendió su uso en medicina.

En efecto, ese año, William Withering, médico y botánico de Birmingham, publicó su pequeño y famoso libro que tituló "An Account of the Foxglove and Some of its Medical Uses". Aquellas páginas que aún hoy pueden leerse con gran provecho, tuvieron la virtud de hacer conocer en el mundo médico este poderoso cardiotónico.

La variedad estudiada por Withering, la *Digitalis purpúrea* L. hubo de pasar mucho tiempo sin ser analizada químicamente. Recién en 1869, Nativelle aisla de un extracto alcohólico de digital una substancia cristalina que llama "digitalina cristalizada".

Estudiada esta substancia detenidamente desde el punto de vista químico y farmacológico por Cloetta (1920), fué denominada *digitoxina*. Este glucósido hidrolizado por medio de ácidos se divide en

* Trabajo efectuado en el Instituto de Farmacología y Terapéutica. Director: Prof. Dr. Mario Soto.

una molécula de digitoxigenina y tres de digitoxosa, siendo este último un componente azucarado. Cloetta aisla posteriormente (1926) en forma químicamente pura un segundo glucósido, la *gitoxina*, cuya fórmula fué establecida por Windaus y col. (1928), quienes obtuvieron del mismo por hidrólisis gitoxigenina y digitoxosa. Por último Cloetta (1926) aisla y Windaus (1928), estudia químicamente un tercer glucósido, la *gitalina* del cual se obtiene por hidrólisis hidrato de gitoxigenina y dos moléculas de digitoxosa.

Posteriormente algunos investigadores fueron incapaces de obtener digitoxina de las hojas de la *Digitalis purpúrea* debidamente estabilizadas lo que les hizo suponer a Stoll y Kreis (1935) que ocurría allí lo mismo que con la variedad *lanata* que, como veremos luego, sufre procesos enzimáticos en la hoja seca que transforman los glucósidos genuinos de la planta fresca. Sus estudios les permitieron aislar en forma químicamente pura el *purpúrea-glucósido A* que es precursor de la digitoxina y el *purpúrea-glucósido B* precursor de la gitoxina. El fermento responsable de la transformación se llama *digipurpidasa* (ver figura 1).

De la *Digitalis lanata*, S. Smith (1930) aisla la *gitoxina*, glucósido que como hemos visto ya se había aislado de la variedad purpúrea, y una nueva substancia, la *digoxina*, glucósido que por hidrólisis da digoxigenina y digitoxosa.

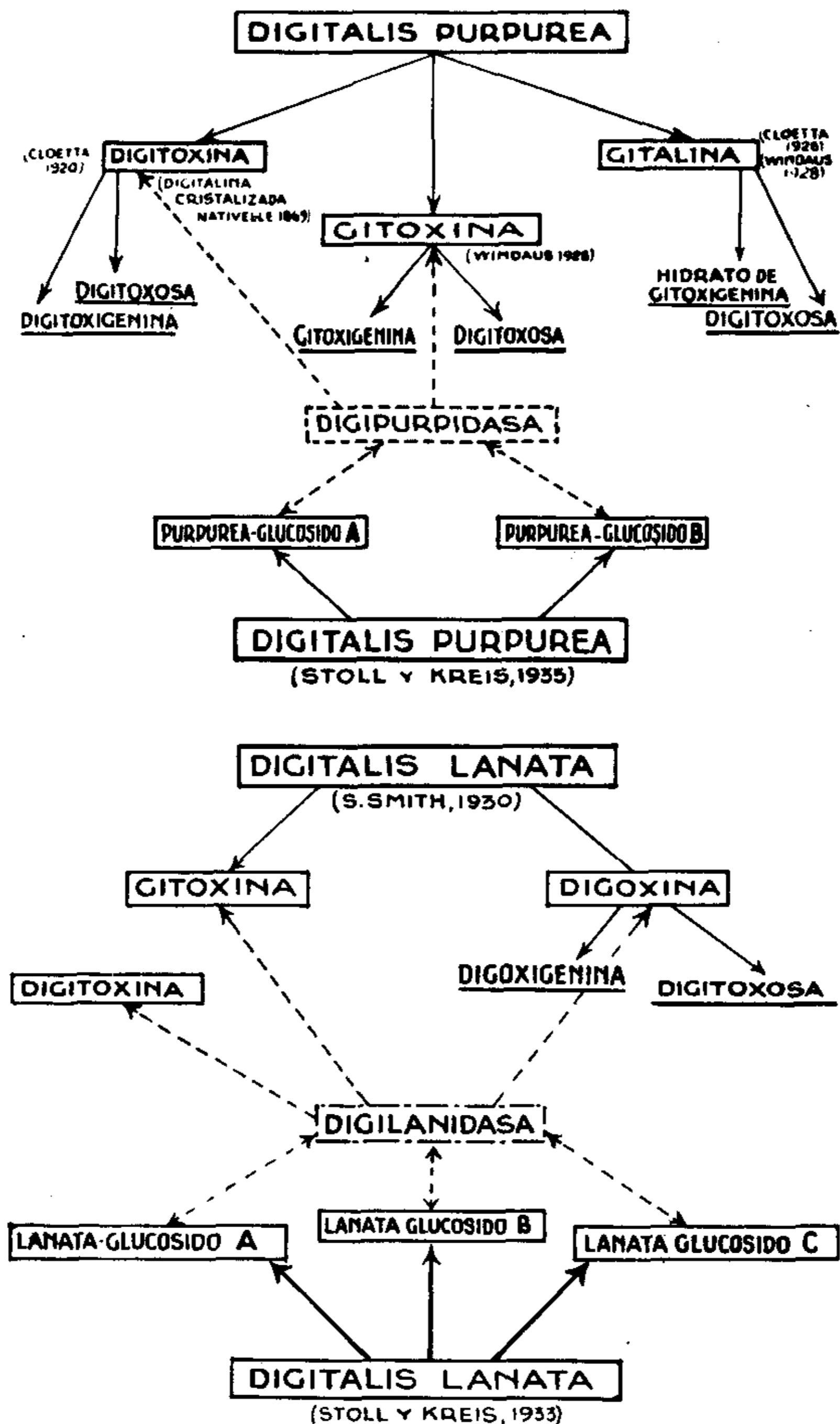
Stoll y Kreis (1933) impiden en la planta muerta los procesos de hidrólisis y oxidación interna, consecuencia de la acción enzimática de un fermento, la *digilanidasa*, que se encuentra en el polvo de la hoja de la *D. lanata*.

De tal manera obtienen tres glucósidos cristalizados que llaman *Lanata-glucósidos A, B, y C*.

Estas substancias sometidas a la acción de la digilanidasa se hidrolizan obteniéndose *digitoxina* del lanata-glucósido A, *gitoxina* del lanata-glucósido B, y *digoxina* del lanata-glucósido C.

Por otra parte, el diacetildigilanid A, o sea lanata-glucósido A con un grupo acetílico más, es química, fisiológica y físicamente idéntico al purpúrea-glucósido A. Lo mismo ocurre con el diacetildigilanid B y el purpúrea-glucósido B. En lo que respecta a la serie C, pareciera que no está representada en la *Digitalis purpúrea* (Stoll, 1937).

TITULACIÓN DE LA DIGITALIS PURPÚREA Y LANATÁ



CUADRO Nº 1. — La digital en sus variedades purpúrea y lanata, y los glucósidos extraídos de ambas, según los diferentes autores.

DE LA DOSIFICACIÓN DE LOS PREPARADOS DIGITÁLICOS

Ya Withering, en el trabajo mencionado, señala el hecho de que en la digital “las hojas varían grandemente en su eficacia en las diferentes estaciones del año y tal vez en los diferentes estadios del crecimiento”. Esta circunstancia que se extiende además a las diversas variedades de digital, ha obligado a buscar la forma de titular la droga, única manera de obtener con ella un efecto terapéutico seguro y constante.

Diversos métodos han sido propuestos, pero sólo nos referire-

mos en este trabajo al *método gato* ideado por Hatcher y Brody (1910), el cual consiste, como se sabe, en buscar la dosis letal mínima de digital por kg. de gato. Los resultados obtenidos se comparan con los producidos por un polvo Standard Internacional de Digital para llegar así a la titulación en Unidades internacionales.

MATERIAL Y TÉCNICA

Drogas ensayadas: Un total de seis drogas, corrientes en la práctica médica de nuestro medio, fueron tituladas por el método gato. Ellas fueron: la Digitalina Nativelle, la Digital Total Lederle, la Digital Total Johnson, la Digalene Roche el Diginutin Burroughs Wellcome y el Digilanid Sandoz.

La *Digitalina Nativelle* se presenta en solución glicero-alcohólica al milésimo de la cual L gotas corresponden a 1 cc. y a 1 mgr. de droga.

La *Digital Total* utilizada fué de las marcas Lederle y Johnson, en comprimidos de 0,10 grs. cada uno de hoja de *Digitalis purpúrea* estabilizada.

La *Digalene Roche*, es anunciada por sus fabricantes, como conteniendo los tres glucósidos y sus respectivas geninas aislados de la digitalis purpúrea y en solución estable, de la cual XL gotas o sea 1 cc. tiene una Unidad Gato de actividad.

El *Diginutin Burroughs Wellcome* se anuncia como una solución estable de los glucósidos totales de la hoja de *Digitalis purpúrea*, valorada fisiológicamente, con una actividad de 1 Unidad Gato por centímetro cúbico. Cincuenta gotas equivalen a 1 cc.

Por último, el *Digilanid Sandoz*, está constituido por los glucósidos de la *Digitalis lanata* llamados Lanatósidos A, B y C, o sea el conjunto de principios activos existentes en la planta fresca. Nosotros hemos ensayado la solución que se utiliza para su administración por vía oral, la cual tiene 0,5 mgr. de droga por cc. Cada cc. da aproximadamente XXX gotas.

Titulación en el gato: La técnica que hemos utilizado es la descrita por Hatcher y Brody (1910) que hemos tomado de Burn (1937).

Para ello, hemos seleccionado gatos entre 1.700 y 2.700 grs. preferentemente, si bien en algunos casos hemos sobrepasado ligeramente estos límites sin observar diferencias fundamentales. Los autores aconsejan practicar la anestesia de estos animales con éter realizando luego la traqueotomía y respiración artificial. Posteriormente, una serie de autores han utilizado otros anestésicos y nosotros, por nuestra parte, hemos usado la inyección intraperitoneal de Embutal (pentobarbital sódico, Abbot) a las dosis de 0,04 grs. por Kg. de peso. De tal manera hemos obtenido anestésias excelentes sin trastornos aparentes de la función respiratoria y que, en un total de 40 experimentos sólo resultó excesiva en una oportunidad por lo que debió desecharse el animal.

Anestesiado el gato, practicamos la disección de la vena femoral por la cual realizamos la perfusión del producto a titular, a una velocidad de 1 cc. por minuto, suspendiendo la misma tan pronto advertíamos el paro cardíaco por palpación torácica. De inmediato se practicaba la autopsia para verificarlo y comprobar el paro ventricular en sístole, lo que ocurrió habitualmente.

La solución de la droga se hizo, en los casos de ensayo de *digital total en polvo* (Lederle y Johnson), siguiendo las recomendaciones de practicar una infusión de la misma en agua destilada a razón de 1 gr. en 200 cc., calentando 15 minutos a una temperatura entre 89° y 91°. Filtrada la infusión, fué llevada a volumen inicial y hecha isotónica con el agregado de cloruro de sodio.

En el caso de la *digitalina*, se tomaron 2 cc. exactamente medidos, agregando solución fisiológica en cantidad suficiente para completar 100 cc. En el caso de la *Digalene* y el *Diginutin*, se diluyeron 5 cc. en solución fisiológica llevando con ésta el volumen hasta 100 cc. Para con el *Digilanid*, se tomaron 3 cc. (1,5 mgrs. de la droga) completando el volumen hasta 100 cc. con solución fisiológica.

El paro cardíaco debe obtenerse entre 30 y 50 minutos del comienzo de la perfusión. Excepcionalmente en nuestros experimentos se han rebasado estos límites. En el cuadro N° 2 será posible observarlo.

Todos los productos utilizados fueron los que habitualmente se encuentran en el comercio y en la forma farmacéutica que vienen para su expendio, de modo tal que nuestras conclusiones puedan tener algún interés práctico. Dichos productos fueron facilitados gentilmente por las respectivas casas introductoras, al igual que el anestésico utilizado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los ensayos con *Digitalina Nativelle* fueron efectuados sobre un total de 7 gatos. Si eliminamos de los cálculos los resultados obtenidos con el gato N° 39, que murió a los 20 minutos de iniciado el experimento, tenemos que 1 U.G. es igual a 0,493 mgrs. de digitalina, cantidad algo mayor que la obtenida por otros investigadores que encuentran esa misma actividad en 0,420 mgrs. (Gold y col. 1942); Council on Pharmacy and Chemistry, 1942). No podemos desde luego descartar la posibilidad de que la solución ensayada por nosotros haya tenido un tenor ligeramente menor a 1 mgr. por cc. como se anuncia. Pero en un caso u otro, 1 cc. de dicha solución tiene la actividad de 2,0 U.G.

La digital total Lederle y la digital total Johnson, fueron ensayadas cada una en 6 gatos. Para la Lederle resultó que cada comprimido que se anuncia como de 1 U.G. tiene, de acuerdo a nuestros experimentos, 0,8 U.G. o, dicho de otra manera, que 1 U.G. es igual a 0,12 grs. del citado polvo de hojas. En lo que respecta a la Johnson, un comprimido rotulado como conteniendo 1 U.G. de digital, tuvo en realidad 1,1 U.G.

Para la *Digalene Roche* efectuamos 7 determinaciones. Del promedio de las mismas resultó que 1 cc. tiene la actividad de 1,1 U.G. o sea que 1 U.G. es igual a 0,87 cc. de la citada solución. Por ello,

LEÓN DE SOLDATI

Gato Nº	Peso	Droga a ensayar	Muere en Minutos	Gasta de sol.	1 U.G. =
1	2,800	<i>Digitalina Nativelle</i> , 2 cc. de sol. glicero-alcólica al 1 por mil en sol. fisiológica hasta 100 cc.	40	49,3 cc.	0,352 mg.
7	1,900		62	57,2	0,600
19	2,840		55	59,3	0,400
20	1,500		51	56,5	0,740
34	1,590		34	35,0	0,440
35	2,700		44	58,0	0,428
39	1,450		20	26,0	0,220
2	1,350	<i>Digital Total Lederle</i> , 5 comp. de 0,10 g. en infusión hecha isotónica.	31	45,0	0,16 g.
6	2,240		65	70,0	0,15
17	2,620		59	62,5	0,11
18	2,250		63	64,8	0,14
25	2,930		46	48,3	0,08
26	2,940		46	58,2	0,098
15	2,100		<i>Digital Total Johnson</i> , 5 comp. de 0,10 g. en infusión hecha isotónica.	50	47,0 cc.
16	1,510	30		31,0	0,10
31	2,360	39		32,2	0,065
32	2,140	32		33,5	0,075
37	2,400	40		44,0	0,09
40	2,940	55		62,0	0,10
3	2,990	<i>Digalene Roche</i> , 5 cc. en solución fisiológica hasta 100 cc.		47	60,0 cc.
5	2,500		50	55,9	1,0
13	2,790		45	49,0	0,85
14	1,750		30	36,5	1,0
21	2,110		29	33,5	0,75
22	1,940		28	27,0	0,70
38	1,870		26	32,6	0,80
4	2,900	<i>Diginutin B. W.</i> , 5 cc. y solución fisiológica hasta 100 cc.	29	41,5 cc.	0,70 cc.
8	1,850		42	45,4	1,2
10	2,980		56	62,8	1,0
28	1,760		32	40,0	1,13
29	1,890		39	38,0	1,0
30	1,500		25	28,5	0,93
9	1,890		<i>Digilanid Sandoz</i> , 3 cc. (1,5 mg. de droga) en sol. fisiológica.	46	46,6 cc.
11	2,030	60		67,5	0,490
12	1,940	42		44,9	0,345
24	1,600	35		40,0	0,375
27	2,690	58		71,0	0,400
36	2,710	36		46,0	0,253

CUADRO Nº 2. — Resumen de los protocolos de un total de 38 experimentos en los cuales se ensayaron 6 preparados digitálicos diferentes.

este producto resultaría un 10 % más activo de lo que anuncian sus fabricantes.

El *Diginutin Burroughs Wellcome*, ensayado en 6 gatos, nos dió 1 U.G. por cada 0,99 cc. o lo que es lo mismo, que 1 cc. tiene la actividad de 1,0 U.G. tal como lo establecen sus productores.

TITULACION POR EL METODO GATO
(HATCHER Y BRODY, 1910)

DROGA	1 U.G. =	U.G. POR PESO O VOLUMEN
DIGITALINA NATIVELLE (DIGITOXINA)	0.493 mg.	1 c.c. sol. al milésimo - 1mg = 2,0 U.G
DIGITAL LEDERLE (HOJAS DE DIGITAL ESTANDARDIZADA)	0.12 grs.	1 comp. = 0,10 gr = 0,8 U.G
DIGITAL JOHNSON (HOJAS DE DIGITAL ESTANDARDIZADA)	0.09 grs.	1 comp = 0,10 gr = 1,1 U.G
DIGALENE ROCHE (SOL. ESTABLE DE LOS TRES GLUCOSIDOS DE LA D. PURPÚREA Y SUS GENINAS)	0.87 c.c.	1 c.c = XL gotas = 1,1 U.G.
DIGINUTIN B.VV. (SOL. ESTABLE DE LOS GLUCOSIDOS TOTALES DE LA D. PURPÚREA)	0.99 c.c	1 c.c = L gotas = 1,0 U.G
DIGILANID SANDOZ (SOL. DE LOS LANATOSIDOS A, B, C).	0.370 mgr.	2 c.c = LX gotas = 1mgr = 2,7 U.G.

CUADRO Nº 3. — Síntesis de los resultados obtenidos en la titulación de las diferentes especialidades medicinales por el método gato.

El *Digilanid Sandoz*, ensayando en 6 animales, dió que 1 cc. de solución tiene la actividad de 1,35 U.G. o lo que es lo mismo, que 0,370 mgr. del producto equivalen a 1 U.G. De tal manera, 1 mgr. de la droga resulta tener según nuestros ensayos, 2,7 U.G. en lugar de 3 U.G. como anuncian sus fabricantes.

Los resultados obtenidos no pudieron ser comparados con los derivados del ensayo del polvo Standard Internacional, como hubiéramos deseado, por cuanto en las actuales circunstancias nos fué totalmente imposible obtenerlo. Por ello, en nuestro trabajo, no nos referimos a U.I. sino a U.G.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

1º Un total de 6 preparados digitálicos derivados de las variedades purpúrea y lanata fueron titulados por el método gato de Hatcher y Brody. Las drogas ensayadas fueron: Digitalina Nativelle,

Digital Total Lederle y Digital Total Johnson, Digalene Roche, Diginutin Burroughs Wellcome, y Digilanid Sandoz.

2º De acuerdo con nuestros experimentos, 1 mgr. de digitalina tuvo de actividad 2,0 U.G.; 1 comprimido de digital Lederle de

<i>Droga</i>	<i>Término medio (TM)</i>	<i>Desviación Standard</i> $\sigma = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n - 1}}$	<i>Desviación Standard del (TM):</i> $\sigma M = \frac{\sigma}{\sqrt{n - 1}}$
Digitalina Nativelle	0,493 mg.	0,147	0,065713
Digital Total Lederle	0,12 g.	0,0317	0,014170
Digital Total Johnson	0,09 g.	0,0028	0,001265
Digalene Roche	0,87 cc.	0,2015	0,08244
Diginutin Burroughs Wellcome	0,99 cc.	0,174	0,013544
Digilanid Sandoz	0,370 mg.	0,0771	0,034465

CUADRO Nº 4. — Cálculo de la desviación standard de los valores individuales y de la desviación standard del término medio, esta última de acuerdo a la fórmula de Van der Waerden (1936).

0,10 g., 0,8 U.G.; 1 comprimido de 0,10 g. de Digital Johnson, 1,1 U.G.; 1 cc. de Diginutin Burroughs Wellcome, 1,0 U.G.; 1 cc. de Digalene Roche, 1,1 U.G. y 1 mgr. de Digilanid Sandoz, 2,7 U.G.

BIBLIOGRAFIA

1. Burn H. J. — "Biological Standardization", Oxford Med. Publ. London, 1937, p. 231.
2. Cloetta M. — "Arch. exp. Path. Pharmacol.", 1920, 88, 113.
3. Cloetta M. — "Arch. exp. Path. Pharmacol.", 1926, 112, 261.
4. Council on Pharmacy and Chemistry of the A. M. A., "J. A. M. A.", 1942, 119, 1025.
5. Fuchs. — 1542. Citado por Withering.
6. Hatcher R. A., Brody. — "Amer. J. Pharm.", 1910, 82, 360.

TITULACIÓN DE LA DIGITALIS PURPÚREA Y LANATÁ

7. *Nativelle G. A.* — "J. Pharm. Chim.", 1869, 9, 255. Cit. por Stoll.
8. *Smith S.* — "J. of Chem. Soc.", 1930, 508; 1931, 23.
9. *Stoll A.* — "The Cardiac Glycosides". The Pharmaceutical Press, London, 1937.
10. *Stoll A. y Kreis W.* — "C. R. Seanc. de la Acad. des Sciences", 1933, 1742; "Münch. Med. Wochen.", 1933, 80, 1, 723.
11. *Stoll A. y Kreis W.* — "Helv. Chim. Act.", 1935, 18, 120.
12. *Windaus A.* — "Arch. exp. Pharmacol.", 1928, 135, 253.
13. *Windaus A., Westphal K. y Stein G.* — "Ber.", 1928, 61, 1847.
14. *Withering W.* — An Account of the Foxglove, and Some of its Medical Uses: with Practical Remarks on Dropsy, and Other Diseases. M. Swynney, Birmingham, 1785. Tomado de *Willius y Keys*, "Cardiac Classics", Mosby & Co., Saint Louis, 1941.

RESUME ET CONCLUSIONS

Un total de 6 préparés digitaliques dérivés des variétés purpurea et lanata furent titulé par le méthode-chat de Hatcher et Brody. Les drogues employées furent la Digitaline Nativelle, Digitale totale Lederle et Digitale Johnson, Digalene Roche, Diginutin Burroughs Wellcome et Digilanid Sandoz.

D'accord avec nos expériences, l'activité d'un mgr. de digitaline fut égale a 2,0 U.G.; un comprimé de digitale Lederle de 0,10 g. = 0,8 U.G.; un comprimé de digitale Johnson = 1,1 U.G.; 1 cc. de Diginutin Burroughs Wellcome = 1,0 U.G.; 1 cc. de Digalene Roche = 1,1 U.G., et 1 mgr. de Digilanid Sandoz = 2,7 U.G.

SUMMARY

1) Six digitalic preparations obtained from *Digitalis purpurea* and *Digitalis lanata* were titrated by Hatcher and Brody's cat method. The drugs tested were "Digitalina Nativelle", "Digital Total Lederle" and "Digital Johnson", "Digalene Roche", "Diginutin Burroughs Wellcome" and "Digilanid Sandoz".

2) Thess essays showed that 1 mgm. digitaline had an activituy equivalent to 2.0 cat units (C.U.); 1 tablet of "Digital Lederle" (0.10 gm.) 0.8 C.U.; 1 tablet "Digital Johnson" (0.10 gm.) 1.1 C.U.; 1 cc. "Diginutin Burroughs Wellcome", 1.0 C.U.; 1 cc. "Digalene Roche" 1.1 C.U., and 1 mgm. "Digilanid Sandoz", 2.7 C.U.

ZUSAMMENFASSUNG

1. 6 Digitalispräparate, die man aus der *Digitalis purpurea* und *lanata* gewann, wurden nach der Katzenmethode von Hatcher und Brody tituliert. Die angewannnten Drogen waren Digitalin Nativelle, Digitalis Lederle, Digitalis Johnson, Digalene Roche, Diginutin Burroughs Wellcome und Digilanid Sandoz.

2. Nach unseren Experimenten hatte 1 mg. Digitalin eine Wirkung von 2,0 Katzeinheiten; eine Tablette 0.10 g. Digitalis Lederle 0,8 Katzeinheiten, eine Tablette von 0.10 g. Digitalis Johnson 1,01 Katzeinheiten; 1 cc. Diginutin 1,0 Katzeinheiten, 1 cc. von Digalene, 1,1 Katzeinheiten und 1 mg. Digilanid Sandoz 2,7 Katzeinheiten.