

Instituto de Inv. Médicas de la Exma. Dip. Prov. de Barcelona
Sección de Medicina
Prof. A. Pedro Pons

Modificación al método de "Hewitt" para la deslipidización de las seroproteínas sin desnaturalizarlas

**Utilización de un nuevo modelo de extractor
continuo en frío**

por
J. GRAS RIERA

(Recibido para publicar el 15 de febrero de 1946)

Describimos una modificación del método de HEWITT que utilizamos en un trabajo en curso acerca del valor de la fracción lipídica en distintos anticuerpos.

El método de HEWITT es una modificación del original de HARDY y GARDINER y del de HARTLEY, todos ellos a base de extracciones alcohol etéreas en frío. Camino distinto es el seguido por MACHABOEUF y TAYEAU, con su método en el que utilizan la acción de los jabones.

HEWITT describe su método trabajando en suero de caballo (100 ml. l. de suero), pero interesándonos para el caso de sueros humanos y por ello en pequeñas cantidades de los mismos, quisimos comprobar por una parte si era factible llevarlo a cabo sin practicar las filtraciones y lavados en nevera, lo cual simplifica la técnica, y por otra utilizar para la extracción final etérea en vez de un aparato de SOXHLET corriente, con lo que es más fácil desnaturalizar las proteínas, un aparato a extracción continua en frío. Como observamos que los modelos conocidos presentaban varios inconvenientes y principalmente no

poder efectuar realmente una extracción a baja temperatura, ideamos el extractor que viene representado en la figura adjunta.

Metódica :

3 m. l. de suero previamente enfriado sobre hielo se introduce en 18 m. l. de una mezcla alcohol etérea (7 partes de alcohol y 3 de éter) enfriada a menos de 10° en un vaso de precipitados introducido en una mezcla de hielo y sal común. Se agita enérgicamente y se mantiene por dos horas en estas condiciones. Puede mantenerse en nevera, pero no es imprescindible.

Transcurrido este tiempo se filtra en el propio laboratorio sin necesidad de hacerlo dentro de cámara frigorífica y se lava varias veces con 4 m. l. de alcohol enfriado sobre hielo. Es importante efectuar bien estos lavados con éter, pues de ellos depende obtener un buen resultado final, y para ello debe procurarse que el precipitado no quede excesivamente amasado.

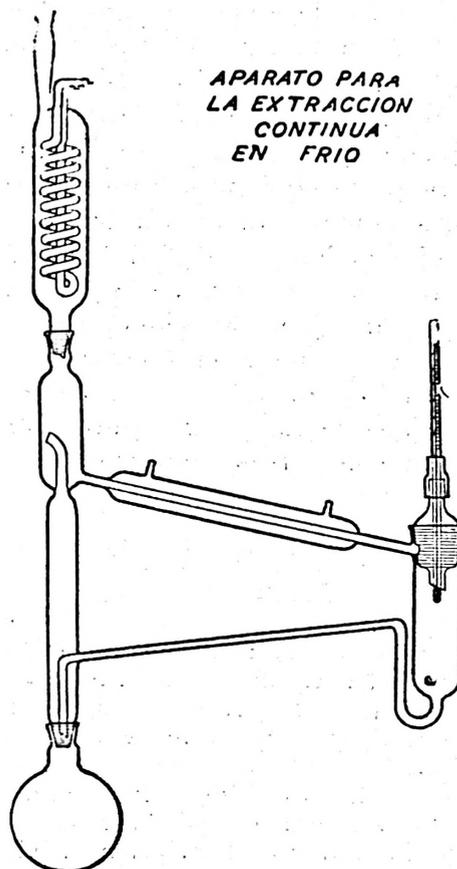
Si no se ha lavado bien y queda excesivo alcohol, se desnaturalizan fácilmente las proteínas. HEWITT destaca acertadamente que exentas de alcohol las proteínas pueden desecarse a temperatura ambiente sin desnaturalizarse, lo que no es posible si quedan trazas del mismo.

Una vez lavadas se pasan con el mismo filtro a un cartucho de extracción y se introducen en la cápsula del extractor, donde se mantienen de 6 a 12 horas, practicándose la extracción mediante éter. Para fijar el alcohol que pueda quedar, se coloca en el matraz de destilación un pedacito de sodio metálico.

Creemos que la figura adjunta hace superflua una descripción detallada del aparato extractor. La disposición que puede verse en la misma permite hacer una buena refrigeración del disolvente antes de que éste llegue a la cápsula de extracción. La refrigeración por corriente de agua se dispone de manera que ésta entre por el refrigerador inferior tipo Liebig y del mismo pase al superior tipo Dimroth. La situación de la cápsula de extracción permite rodearla de una mezcla frigorífica, con la que se puede trabajar a temperaturas inferiores a 0°, comprobables por el termómetro que atraviesa el tapón de la cápsula. La caída del disolvente encima del cartucho de extracción, se consigue con la disposición de dicho tapón, vacío

interiormente, y con una abertura que coincide con la del tubo de llegada del líquido de extracción.

El vaciado de la cápsula se obtiene mediante un tubo de diámetro estrecho dispuesto en sifón y que conduce el líquido



nuevamente al matraz destilador. Regulando bien la calefacción (por hornillo eléctrico) y la refrigeración, se consigue llenar y vaciar la cápsula cada 10 minutos, aproximadamente, trabajando con el modelo que hemos utilizado, cuyo matraz de destilación posee una capacidad de 100 m. l. (*).

(*) Este modelo ha sido construido por la casa Masó Pujol. En la técnica que describimos se trata del caso de extraer un producto sólido; pero si es necesario extraer líquidos, puede recurrirse a los mismos tipos de cápsulas de los KUMAGAWA, las cuales se colocan dentro de la cápsula del extractor que hemos descrito, teniendo sus dispositivos de vaciado por encima de la curva del sifón de la misma. Igualmente puede disponerse el mismo modelo para casos en que sea necesaria una mayor capacidad.

Naturalmente que no puede utilizarse este dispositivo si nos interesase mantener también a baja temperatura los lípidos que extraemos.

Al cabo de las 6 a 12 horas sacamos las proteínas del extractor y se dejan secar a la temperatura ambiente para redissolverlas al día siguiente en suero fisiológico. Si deseamos conservarlas en polvo, pueden desecarse al vacío sobre sulfúrico, pero siempre antes de redissolverlas deben mantenerse unas horas al aire y a temperatura ambiente, para que absorban humedad, lo que facilita su redisolución.

Una operación bien conducida nos da las proteínas en forma de un polvo blanco, que se redissuelve fácilmente o todo lo más antes de 24 horas manteniéndolas en nevera, dando una solución límpida exactamente parecida al suero original.

En estas condiciones hay una pérdida aproximadamente de un 50 % de las proteínas contenidas en el suero de que se partió, comprobado por determinaciones refractométricas y gravimétricas. Esto ha de tenerse en cuenta según las últimas condiciones de trabajo con estas proteínas exentas de lípidos, y una de las formas de subsanarlo puede ser redissolverlas en menor cantidad que la correspondiente a la de suero que se utilizó.

Summary

A modification to the HEWITT method for the deslipidisation of the seroproteins without denaturalizing them is described. The precipitation by means of the mixture of ethereal alcohol and the subsequent washings is simplified, for on working with human serums and, thereby, with small quantities, maximum 3 ml. it is not necessary to effect such operations in refrigerators.

The final extraction with ether is carried out in a new model of continuous extractor in cold, the description of which, as well as the scheme are include hereto.

Zusammenfassung

Es wird eine Änderung der Methode von HEWITT zur Entfettung der serumeiweiss beschrieben, ohne sie zu desnaturalisieren. Man vereinfacht die Fällung und die darauf folgenden Waschungen mit der Mischung von ätherischem Alkohol, den beim Arbeiten mit menschlichen Serum, und daher mit kleinen Mengen, maximum 3 ml., ist es nicht notwendig diese Arbeiten in Kühlkammer vorzunehmen.

Die letzte Entziehung mit Ather wird in einem neuen Modell von

beständig kaltem Extractor ausgeführt, dessen Beschreibung und Zeichnung beigelegt wird.

Bibliografía

- HARDY y GARDINER. — J. Physiol. 40: 68, 1910.
HARTLEY. — Brit. Jour. Exp. Path. 6: 180, 1925.
HEWITT. — Biochem. Jour. 21: 216, 1927.
MACHABOEUF y TAYEAU. — Comp. R. Soc. Biol. 129: 1184, 1938.
-

Cátedra Farmacología
Facultad de Medicina, Barcelona
Prof. García Valdecasas

Estudio experimental sobre la farmacología de los principios activos del "allium sativum" (1)

por
ENRIQUE UMBERT DE TORRESCASANA

(Recibido para publicar el 20 de marzo de 1946)

INTRODUCCION

Al «Allium Sativum» y especies relacionadas se les han atribuido las más diferentes virtudes y se le ha empleado en las afecciones más diversas.

En muchas de las fórmulas acreditadas se mezclan las observaciones atinadas con la más crasa superstición, pero la mayoría de sus usos (transtornos digestivos, afecciones respiratorias y enfermedades circulatorias) han persistido a través de generaciones, demostrando evidentemente la existencia de un substrato de realidad. Por este motivo, nosotros hemos querido estudiar con detalle la farmacología de esta planta tan interesante para la Medicina de todos los tiempos.

Según RUNGOST (45), los ajos contienen un glucósido sulfurado, la aliína, a partir del cual se forma por acción de un fermento una esencia sulfurada, que, según WHERTEIN (64), es una mezcla variable de muchas combinaciones de azufre y una de oxígeno con un solo radical alilo, contiene también (SEMLER) (49), disulfuro de etilpropilo, trisulfuro de alilo y probablemente también tetrasulfuro. Las propiedades activas del ajo no dependen del azufre que contienen (MANGRANE 30). VINCENT, las atribuye a su contenido en sulfuros dialílicos. La planta fresca contiene pequeñas cantidades de ácido sulfocianico (PEYER 43), HANS v. ELUER y MALBERG, 20), han estudiado un principio activo de influencia muy intenso sobre la

(*) Resumen de la tesis para el grado de Doctor.

formación de glóbulos rojos. El ajo no contiene prácticamente vitamina C (JARUSSOWA y LANOWSKAYA, 65), PARRINO y DOMINICIM, 41), GLASSER y DROBNIK, 16), han relacionado los fermentos de óxidorreducción que contiene el ajo con su acción antibacteriana y HIETZELMAN ha propuesto un método para valorar los extractos de ajo basándose en su efecto protector frente a dosis tóxicas de ergosterina irradiada.

La acción antibacteriana ha sido estudiada por DOMBRAY y VLANIOWISCH (10), STOKERS (956), SABRBZES (46), MICHAELIS (34), SERREL, COOKE y GABRIEL (55), utilizan el jugo de ajo para la cura de heridas purulentas. Según WAUGH (63), la sangre de sujetos que han tomado previamente grandes cantidades de ajo ejerce una acción bactericida acentuada sobre los cultivos de estafilococos. FUST (15), estudia la acción de los vapores de ajo sobre los cultivos de bacilos de Bang y de la erisipela, y sobre los esporos de *Bac subtilis* y *B. Antracoide*, y comprueban que ejerce una acción inhibidora.

KOLLE, LAUBENHEIMER y VOLMAR (25), BOECKER (4), LEHMANN (27), JACOBSON (23), SCHANG (47) han estudiado también el efecto inhibitor sobre otros gérmenes.

CAÑADELL y GARCÍA VALDECASA (5) obtienen del *allium sativum* extractos de gran actividad bacteriostática, no teniendo el principio activo y hidrosoluble relación con los componentes de la esencia del ajo. Este principio estermolabil destruyéndose a 50° siendo activo a la concentración de 1 por un millón, permitiendo a esta dilución sólo el crecimiento del sesenta por ciento del Flexner y Shiga. Este principio no se altera en atmósfera de oxígeno. Se disminuye en otra de $C O_2$.

TOROPTSEU y FILATOVA (58), observan en el tratamiento de heridas infectadas que estos principios incluso matan protozoos, de nominan a estos principios «fitonocidas». TOKIN (57), recomienda emplear estos principios junto con las sulfamidas.

CAVALLITO y BAYLEY (7), observan que actúan sobre gérmenes Gram negativos resistentes a la penicilina.

Desde antiguo se admite la acción hipotensora del ajo. (LOEPER, DEBRAY y PONILFARD, 28). Se sabe también que aumenta la energía de contracción cardíaca y disminuye la frecuencia del pulso.

La cuestión del valor terapéutico del ajo y de los productos aliáceos, han sido objeto, en estos últimos años, de múltiples artículos y controversias, entre los médicos (MARCOVICI (31), FRENKEL LE NITZKAJA (14), DELVAILLE (9), MOHLEN (37), BECHER y FUSSENGER (1), SCHLESINGER (50), SCHVAHN (54), SCHRADER (52), MAY (22), ORTNER (38), LOEPER y DEBRAY (29), ROOS (44), KRETSCHMER (26), SCHUBERT (53), SHINDEL (48), NOETHER (36)

Es importante también la acción antihelmíntica del ajo Toscano RICCO (59), VANNI (60).

El extracto de ajos excita al principio las funciones endocrinas, y más tarde las inhibe, es decir, las dosis pequeñas son estimulantes y las grandes inhibitoras (YUN y RHEE (66).

La toxicidad de los preparados de ajo ha sido estudiada experimentalmente por PERRIN, DOMBRAY y VLAICOVITCH (42), CAVALLITO y BAYLEY (7).

PARTE EXPERIMENTAL

En la revisión de los estudios antiguos y modernos sobre el ajo que acabamos de hacer, resalta en seguida la falta de una investigación sistemática de la acción farmacológica del bulbo de esta planta y de si las diversas acciones descubiertas en su jugo (antiséptica, antidiarreica, hipotensora, etc.) se deben a un único principio activo o son, por el contrario, manifestaciones de la presencia de varias substancias farmacológicas. Por este motivo, y aconsejados por el Profesor García-Valdecasas, hemos orientado el trabajo de esta Tesis Doctoral a estudiar con el máximo detalle que nos ha sido posible, las acciones de los principios activos del ajo, sobre los diversos órganos y aparatos de la economía. Antes de entrar en nuestro estudio experimental, queremos agradecer al Professor GARCÍA-VALDECASAS sus constantes consejos, a lo largo de todo el trabajo, y haber puesto a nuestra disposición las distintas fracciones químicas por él obtenidas, a partir del jugo del tantas veces citado bulbo.

Hemos utilizado para nuestro estudio farmacológico, tres fracciones químicas.

1) Un extracto total del bulbo de ajo, obtenido por extracción hidroalcohólica y concentrado, por la precipitación de las pectinas, hasta que 40 c. c. correspondían a un kilogramo de bulbos. Este extracto había sido ya ensayado en sus propiedades bacteriostáticas por GARCÍA-VALDECASAS y CAÑADELL (5) y encontrado poseer elevada actividad contra los bacilos de FLEHNER y SHIGA. A este extracto los referidos autores lo designaron con el nombre de extracto 20, y de igual forma lo llamaremos nosotros aquí.

2) Un extracto obtenido a partir del anterior por tratamiento clorofórmico, evaporación del mismo y disolución en agua, que según los mismos autores (datos aun no publicados) posee también intensa actividad bacteriostática. Lo llamaremos extracto 210.

3) La solución restante después de la extracción cloro

fórmica que ya carecía por completo de acción bacteriostática. La designaremos con el nombre extracto 214.

Todos los extractos ensayados tienen de común el poseer intenso olor aliáceo. A continuación damos cuenta de los resultados de nuestro estudio.

Toxicidad. — Hemos estudiado la toxicidad en cobayos y ratas, tanto en administración parenteral como digestiva. En administración subcutánea, los tres extractos resultan altamente irritantes, dando lugar fácilmente a la producción de accesos que interferían los resultados, por lo cual abandonamos dicha vía como medio de investigar la toxicidad.

La toxicidad por vía intravenosa fué estudiada en la rata y el ratón, encontrándose valores semejantes para ambas especies. La dosis 50 L corresponde a 0,02 c. c. por gramo de extracto 20. Los animales morían rápidamente, después de un ligero período convulsivo, o sobrevivían indefinidamente. Sin embargo, la repetición de dosis no mortal en días sucesivos, llegaba a producir la muerte en un cierto número de animales, por lo que hay que admitir una cierta capacidad acumulativa, aunque no nos ha sido posible aclarar si es de substancia o si es simplemente de efecto.

Tabla 1.^a (Cobayos)

N.º	26 - 4 - 45	30 - 4 - 45	3 - 5 - 45	7 - 5 - 45	11 - 5 - 49
1	620 grs.	550 grs.	620 grs.	603 grs.	575 grs.
2	555 »	420 »	370 »	— absceso	
3	650 »	605 »	670 »	605 grs.	602 »
4	590 »	490 »	535 »	490 »	495 »
5	650 »	560 »	610 »	585 »	585 »
6	690 »	620 »	685 »	630 »	685 »
7	690 »	600 »	655 »	615 »	585 »
8	630 »	620 »	655 »	665 »	535 »
9	730 »	680 »	712 »	640 »	690 »
10	550 »	460 »	535 »	480 »	505 »

Por vía oral la toxicidad es mucho menor. Los cobayos de unos 650 gramos resisten sin trastorno alguno aparente dosis diarias de 1 c. c. (1,6 c. c. por Kg.) por tiempo indefinido. La administración se realizó siempre por medio de sonda intra-

esofágica, para tener la absoluta seguridad en la misma. Los protocolos de la tabla 1.^a demuestran una ligera pérdida de peso.

En las ratas los resultados son semejantes. Dosis de 0,5 centímetros cúbicos administrados diariamente en la forma señalada (5,5 c. c. por Kg.) durante 15 días, sólo producían ligera pérdida de peso.

Tabla 2.^a (Ratas)

Nº	26 - 4 - 45	30 - 4 - 45	5 - 5 - 45	7 - 5 - 45	11 - 5 - 45
1	112 grs.	102 grs.	102 grs.	100 grs.	105 grs.
2	100 »	92 »	97 »	100 »	100 »
3	110 »	92 »	94 »	95 »	8c (Parto) 9-V-45
4	103 »	90 »	97 »	105 »	100 grs.
5	94 »	80 »	85 »	85 »	85 »
6	100 »	90 »	87 »	83 »	85 »
7	83 »	77 »	77 »	80 »	75 »
8	75 »	75 »	75 »	73 »	73 »
9	65 »	65 »	67 »	70 »	70 »
10	65 »	62 »	64 »	68 »	70 »

El estudio histológico de las vísceras dió los siguientes resultados (1):

Bazo. — Casi sin excepción se ha encontrado hiperplasia del tejido linfoide, dilatación de los senos venosos, gran destrucción de las hemáties en ella contenidos y aumento en algunos casos del pigmento hematógeno.

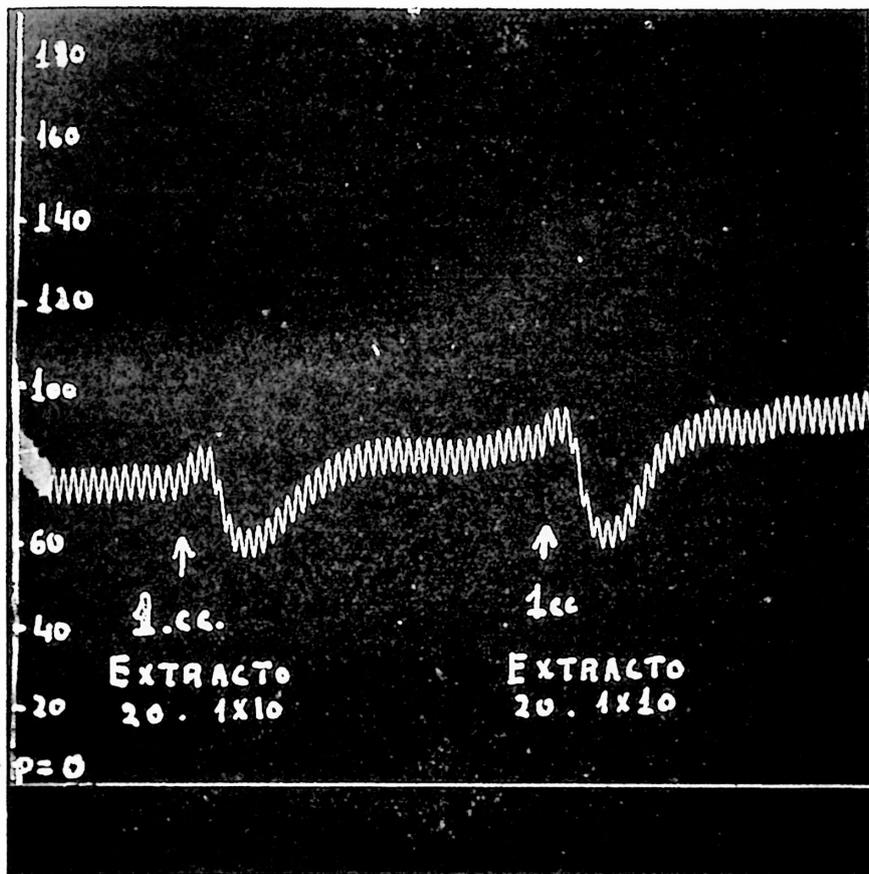
Hígado. — En la mitad aproximadamente de los animales aparece ligeramente congestionado y con presencia de pigmento hematógeno en las células de KUPFFER. También se presenta una degeneración ligera de carácter turbio o microvacuolar.

Riñones. — Ligera degeneración turbia y algunos casos congestión difusa. Un solo animal presentaba degeneraciones frecuentes de carácter necrótico en los tubos renales, que casi recuerdan las lesiones producidas por los tóxicos mercuriales.

Suprarrenal. — Sólo se manifiesta una reacción hiperhémica, más aparente en la medular que en la cortical.

Comentario. — Vemos, pues, que las lesiones son en general de carácter congestivo, presentándose en un tanto por ciento de animales, tendencias degenerativas en los elementos parenquimatosos.

— Merece destacarse el hecho del aumento del pigmento he-



Gráfica 1

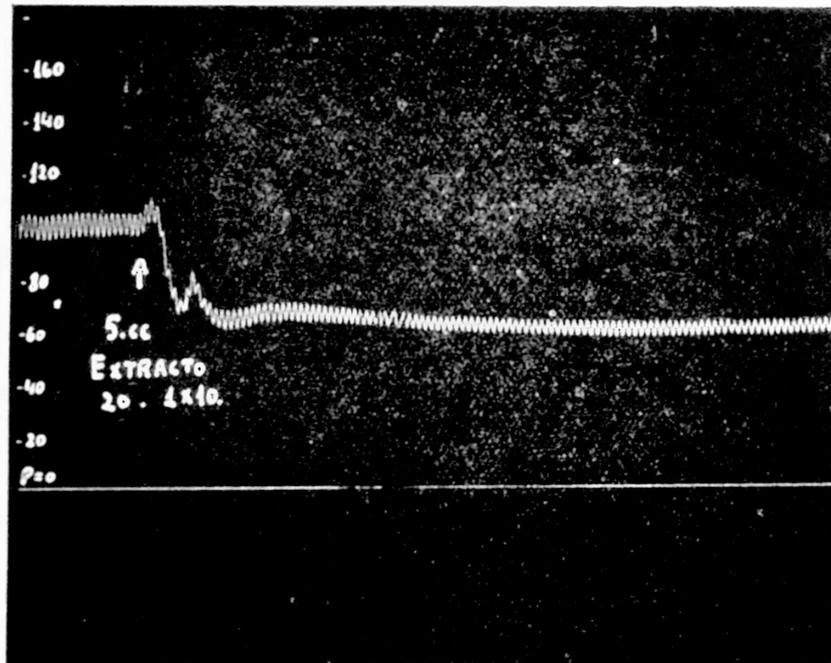
mático claramente apreciable en muchos casos, lo que hace sospechar una acción eritrocítica más o menos intensa.

Nos ha llamado la atención la correlación que parece existir de signo negativo entre las lesiones hepáticas y esplénicas en el sentido de que en los animales cuyas lesiones esplénicas eran más acentuadas, mostraban un hígado casi normal, mientras que aquellos otros en los cuales el bazo estaba menos alté-

rado, las lesiones del hígado eran más intensas, mayor congestión y más abundante contenido pigmentario de las células de KUPFFER. El mismo fenómeno aunque con menos claridad puede apreciarse también con relación al riñón. Por ejemplo, el animal que reseñamos anteriormente, cuyo riñón presentaba tan graves lesiones necróticas, poseía, en contraste, un hígado y un bazo de aspecto casi normal.

Acción sobre la presión arterial

Las investigaciones han sido realizadas siempre en el gato anestesiado con éter, y registrando la presión arterial con el

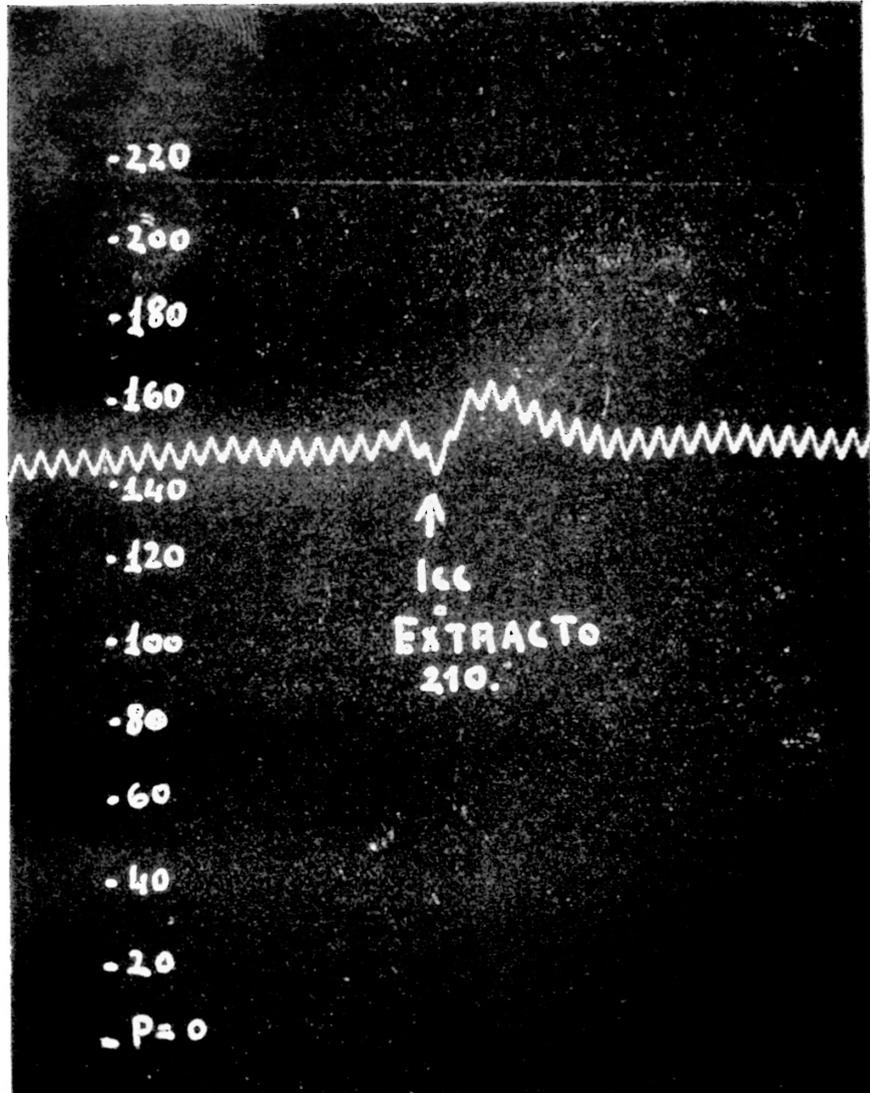


Gráfica 2

manómetro de mercurio. Los resultados son los siguientes:

Extracto 20. — Produce una acción hipotensora muy intensa (Gráficas 1 y 2) pasajera con las dosis débiles, pero muy prolongada con las fuertes. La constancia de esta reacción es absoluta.

Extracto 210. — Como puede observarse en la gráfica 3, carece en absoluto de acción hipotensora, manifestando, por el



Gráfica 3

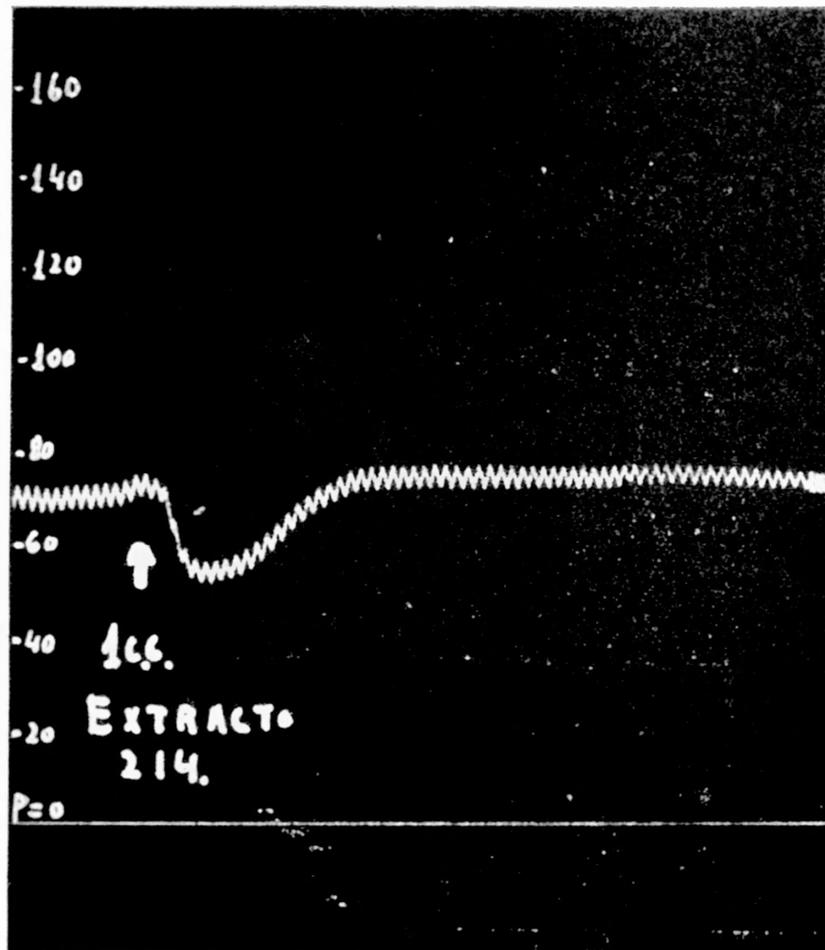
contrario, una acción ligeramente hipertensora. Dicha acción no se intensificaba al aumentar la dosis.

Extracto 214. — Vemos por las figuras 4 y 5 que este ex-

tracto conserva toda la capacidad hipotensora del extracto 20 con las mismas características.

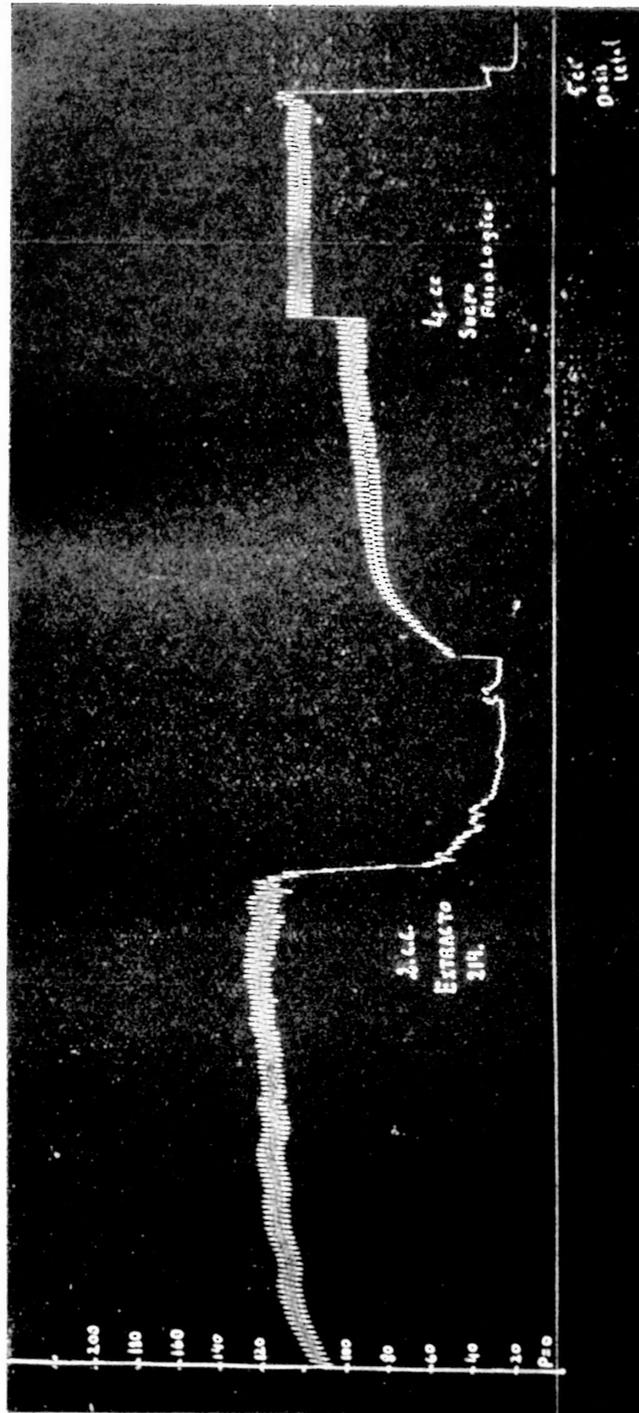
Comentario

De los resultados anteriores se deduce que en el extracto de ajo se encuentran dos principios activos completamente distin-



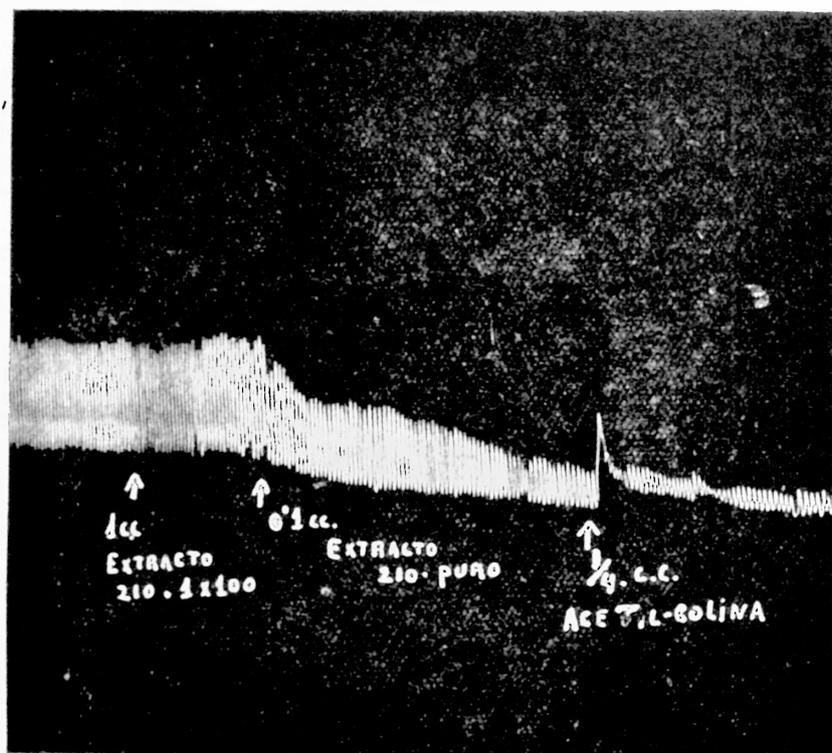
Gráfica 4

tos. Un principio bacteriostático, presente en los extractos 20 y 210. (CAÑADELL y GARCÍA-VALDECASAS (5) y un principio hi-



Gráfica 5

potensor presente en los extractos 20 y 214 y que, según acabamos de demostrar no tiene nada que ver con el anterior. Hecho este descubrimiento resultaba aún más interesante el estudio de la acción de ambas sustancias en los demás órganos. Así, pues, dos de los efectos atribuidos al ajo se deben, con seguridad, a sustancias diferentes y que pueden fácilmente



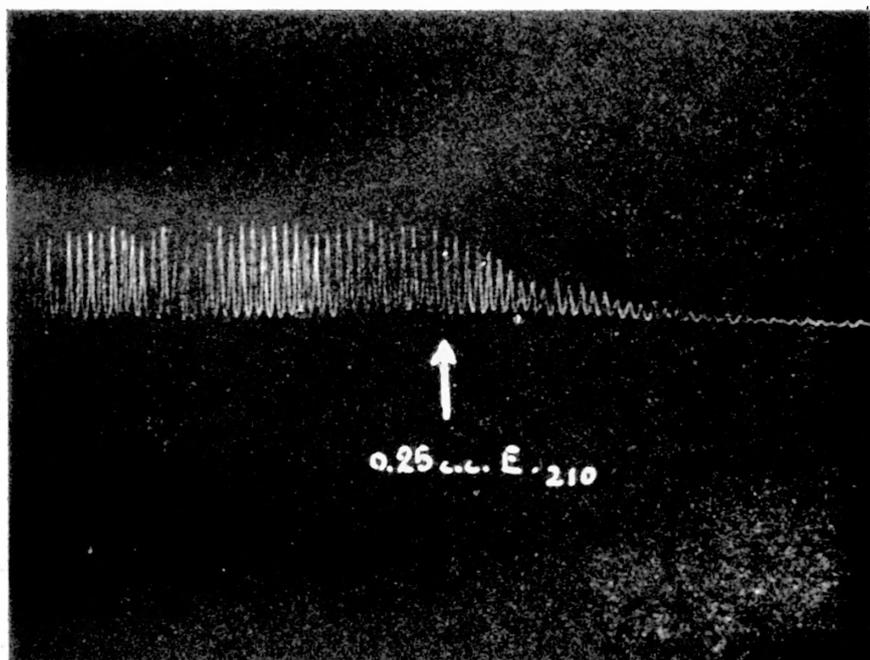
Gráfica 6

separarse. Una sustancia hipotensora predominante hidrosoluble y una sustancia antiséptica predominantemente liposoluble, aunque también se disuelva en agua. Como casi simultáneamente con el trabajo de CAÑADELL y GARCÍA VALDECASAS (5), había aparecido en Norteamérica el trabajo de CAVALLITO y colaboradores (7), que obtenían al parecer la misma sustancia antiséptica por método químico distinto, investigamos si dicha sustancia poseía las mismas propiedades farmacológicas que aquéllas de la estudiada por nuestro maes-

tro. En efecto, las acciones fueron absolutamente idénticas, tanto en la presión arterial como en los demás órganos, en tal forma que, en adelante, utilizaremos para nuestras investigaciones indistintamente, la substancia extraída por uno u otro procedimiento.

Acción sobre intestino aislado

Hemos utilizado el intestino de conejo preparado según



Gráfica 7

MAGNUS, en baño de Tyrode a 38,5°. Capacidad del baño 100 c. c.

Extracto 20. — Posee una acción paralizante típica, en todo semejante a la que en seguida describiremos para el extracto 210 y por lo cual, y en gracia a la brevedad, no insistiremos sobre ella.

Extracto 210. — Las gráficas 6, 7 y 8 manifiestan la acción paralizante de este extracto, mejor que todas las descrip-

ciones. Las dosis muy débiles no manifiestan acción alguna (figura 6), pero a una concentración de un 1 × mil (0,1 en 100 centímetros cúbicos) produce una disminución rápida de los movimientos que se intensifica de forma progresiva e impide, casi por completo, la acción de la acetil-colina (0,25 c. c. al

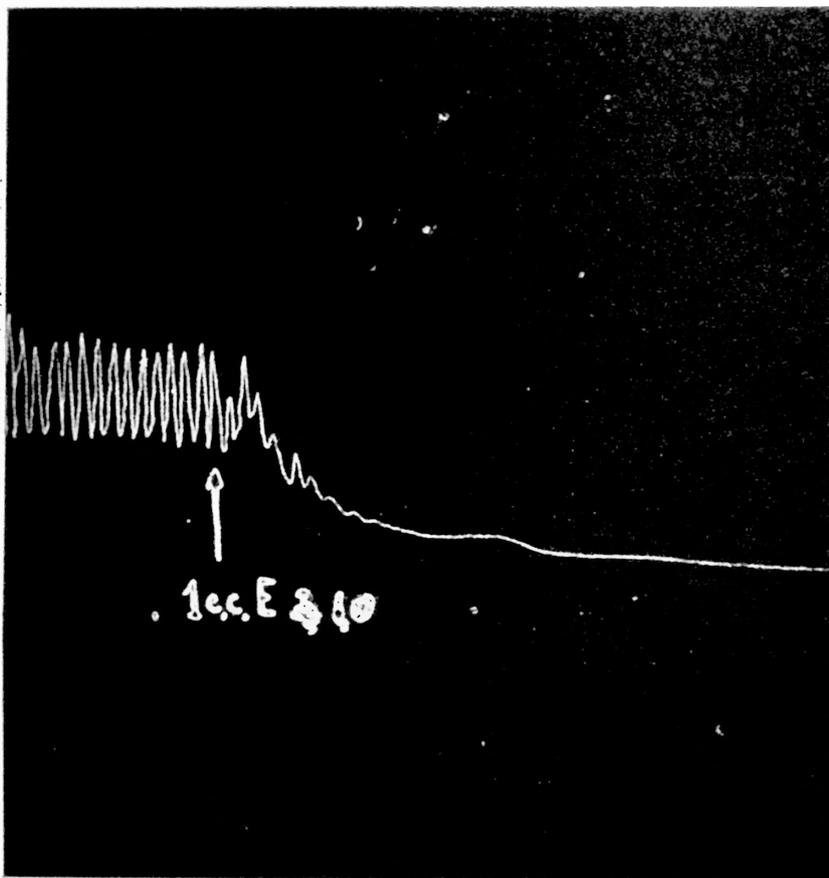
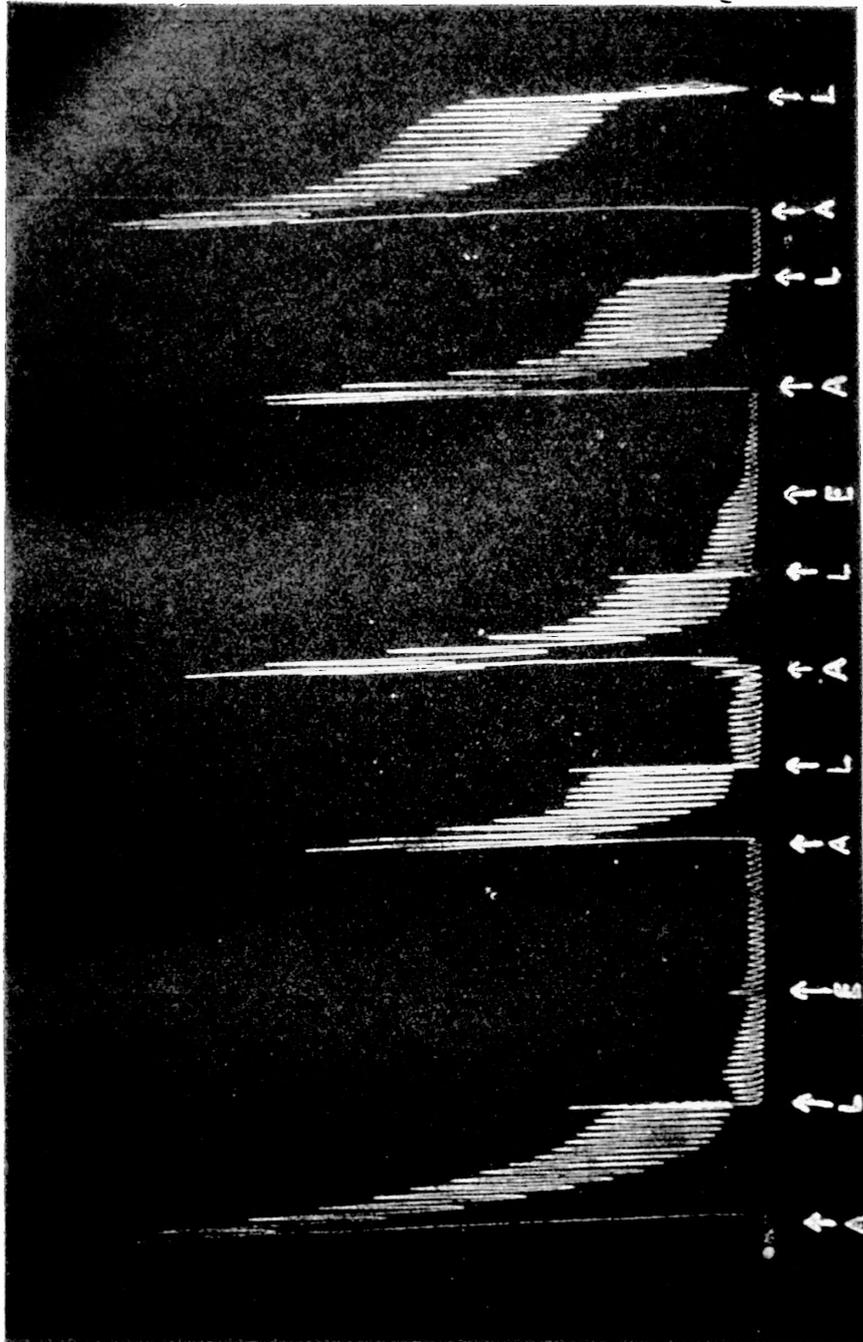


Gráfico 8

1×10.000). Las dosis más fuertes ($2,5 \times 1.000$) producen la parálisis total, en breve espacio de tiempo y con dosis aun mayores, la parálisis es casi instantánea.

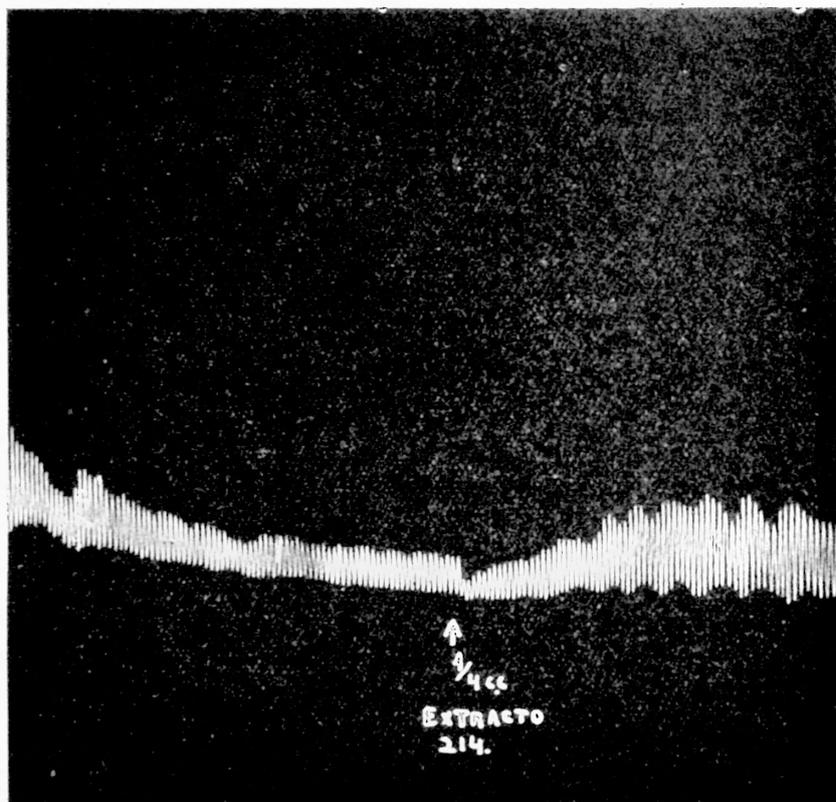
En la figura 9, hemos hecho un estudio detenido del posible antagonismo entre las sustancias que estudiamos y la acetilcolina, ya que, según vimos en la gráfica 6, podía presumirse. Según puede apreciarse en dicha figura 9, la presencia



Gráfica 9

de pequeñísimas cantidades de extracto disminuye la acción acetilcolínica de forma manifiesta.

Extracto 214. — En la gráfica de la figura 10 aparece el efecto de este extracto sobre el intestino aislado. Como puede apreciarse carece en absoluto de acción paralizante, presentando, por el contrario, un efecto estimulante ligero, que se aprecia claramente por el aumento de la amplitud de movimientos.



Gráfica 10

do, por el contrario, un efecto estimulante ligero, que se aprecia claramente por el aumento de la amplitud de movimientos.

Comentario

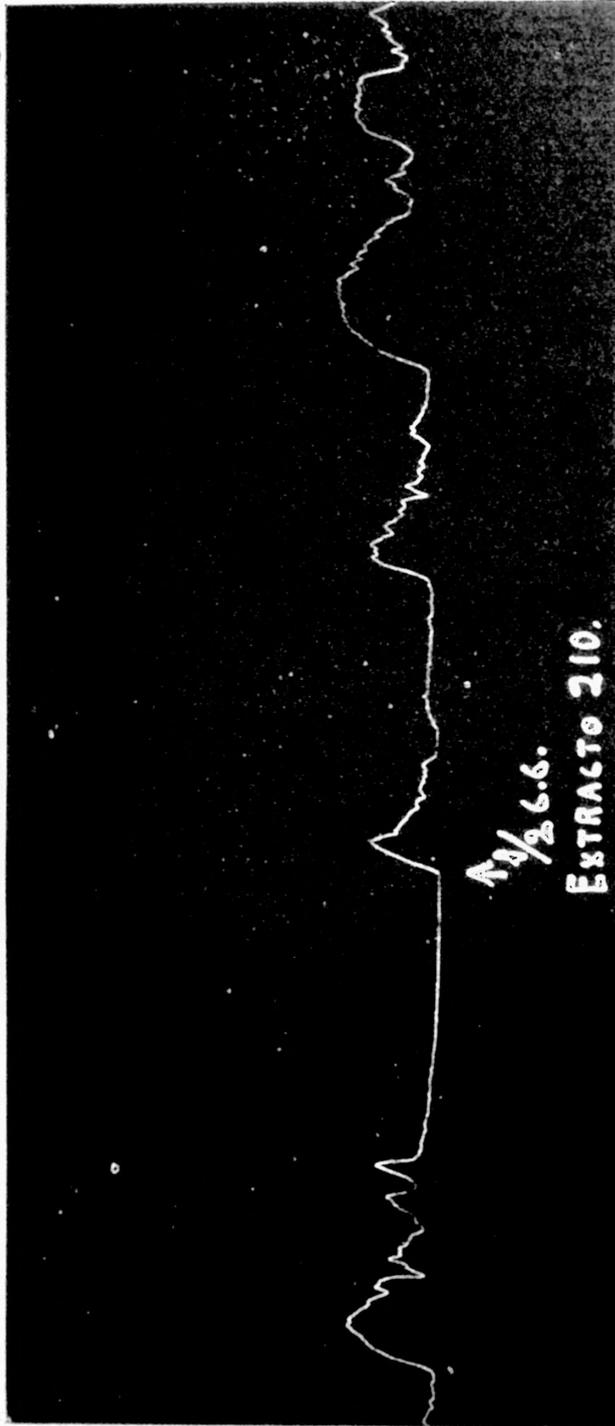
En su acción sobre el intestino aislado vuelve a apreciarse la distinta acción farmacológica de ambos principios activos. El principio bacteriostático resulta intensamente paralizante y antagoniza la acción de la acetil-colina y de otros estimulan-

tes (Cl₂, Ba, etc.). Esta acción no había sido descrita hasta ahora por ningún autor. Al contrario, NOTHER (36) describió una acción estimulante que a nuestro modo de vez corresponde a la que produce el extracto 214, o sea el mismo que resultaba hipotensor en el gato. Así, pues, según lo referido hasta ahora, la substancia hipertensora es paralizante en el intestino y la substancia hipotensora es excitante. Parece, pues, que el mecanismo de acción tuviese alguna relación con la acción de los nervios vegetativos. Sin embargo, la acción hipertensora del extracto 210 es demasiado débil para inferir una acción simpática, y lo mismo podemos decir de la acción excitante del extracto 214 sobre el intestino en relación a una acción parasimpática.

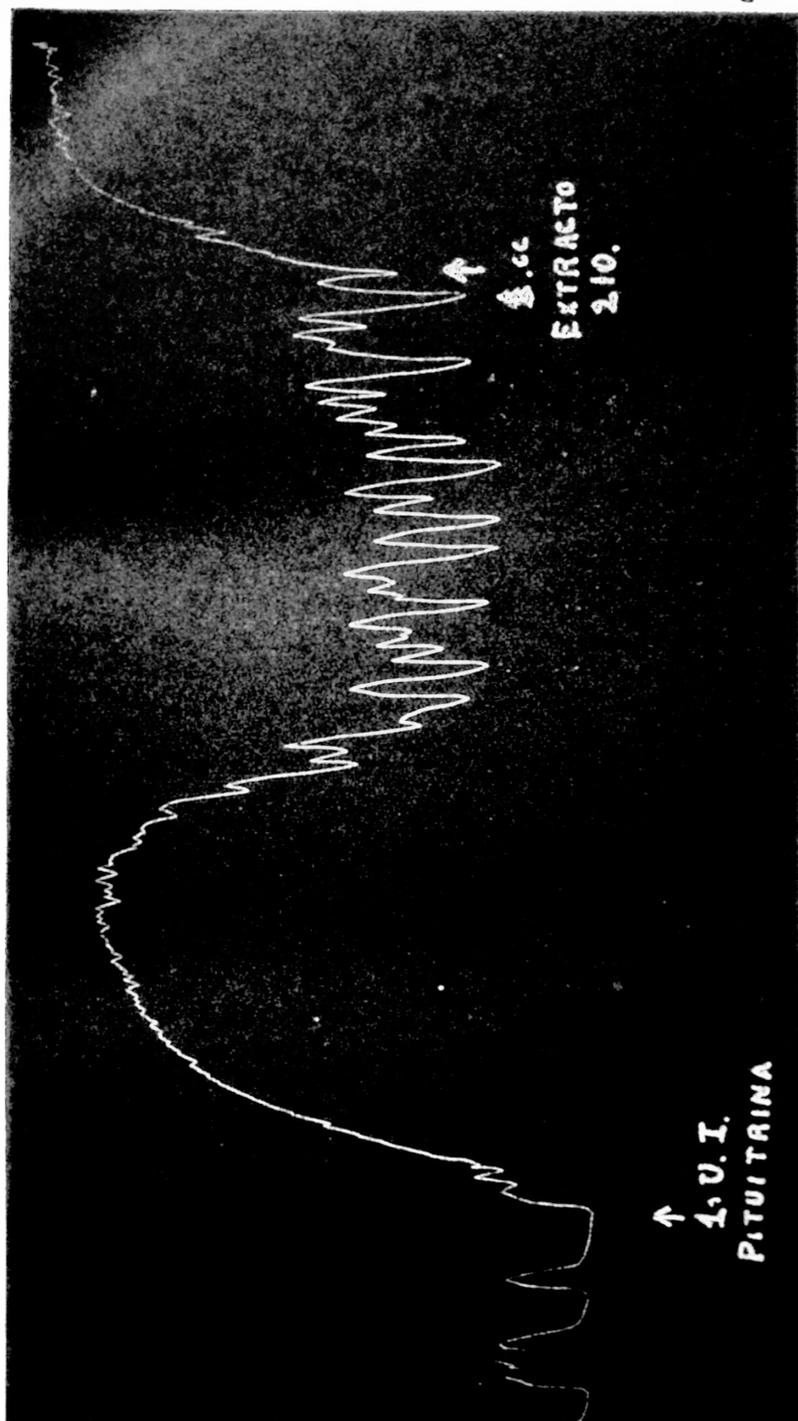
Acción sobre útero aislado

Hemos utilizado el útero aislado de cobayo virgen, suspendido en baño de Tyrode a la temperatura de 38,5°. Capacidad del baño 100 c.c.

Los tres extractos investigados carecen en absoluto de acción manifiesta sobre la fibra lisa del útero. Como puede apreciarse en la figura 11, con relación al extracto 210, las contracciones espontáneas del útero no se modifican al añadir al baño 0,5 c. c. de extracto 210, dosis más que suficiente para paralizar en breves momentos las contracciones intestinales. Dosis mayores tampoco manifestaban acción alguna. Sin embargo, esta carencia de acción de los principios activos del ajo sobre el útero, sólo es aparente en cuanto concierne al extracto 210. En efecto, hemos notado que aparece, aunque de forma inconstante, el fenómeno representado en la figura 12. Consiste en lo siguiente: si al baño de perfusión se añade una dosis fuerte de pituitrina, el útero se contrae al máximo durante un cierto tiempo, pasado el cual vuelve a relajarse, presentando entonces amplias contracciones y frecuentes. Pues bien, si en este momento añadimos extracto 210, aparece en algunos casos de nuevo la contracción máxima primitiva que se mantiene de forma prolongada. El fenómeno, como decimos, no es constante en todos los úteros, presentando otros, como ocurre en la figura 13, la tendencia progresiva a la atonía sin acción manifiesta por parte del principio aliáceo.



Gráfica II



Gráfica 12

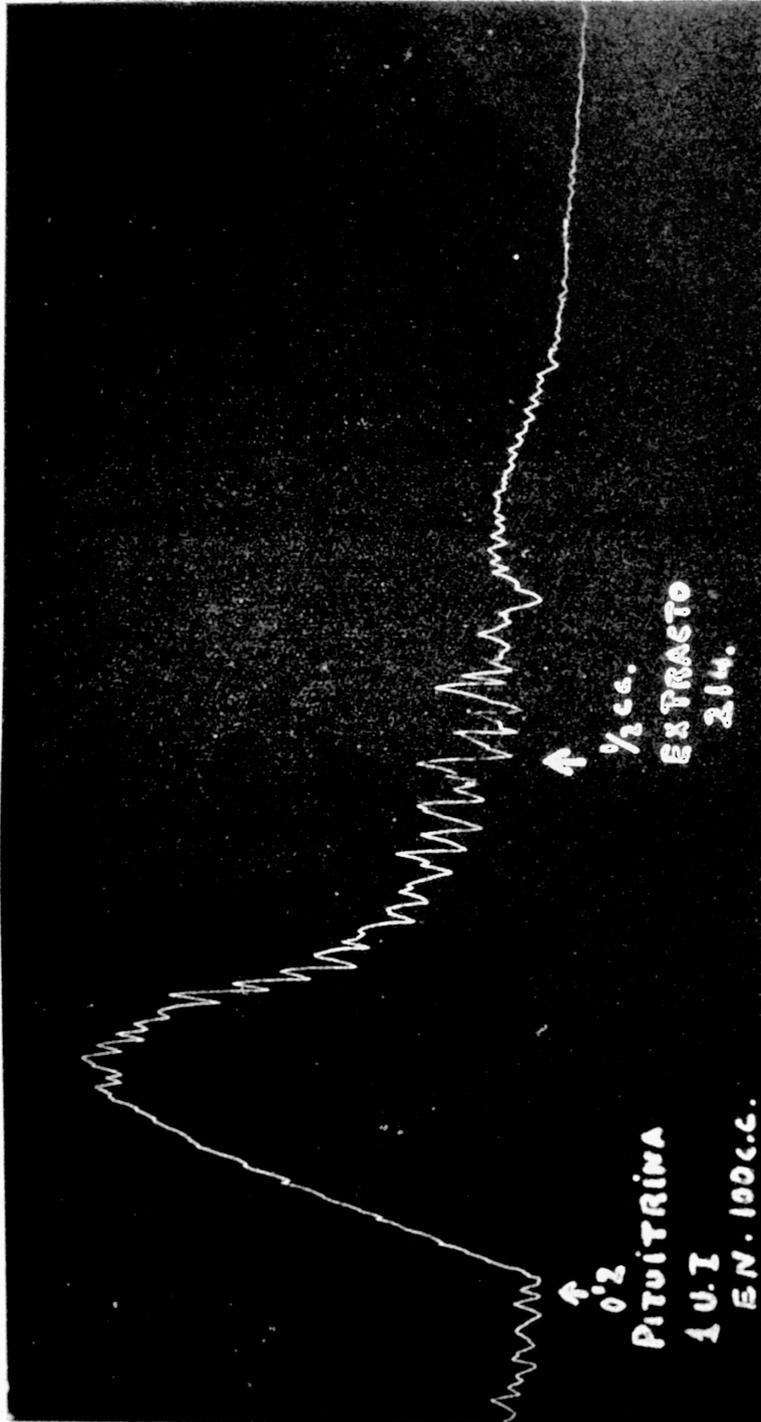


Gráfico 14

La adición simultánea al baño de perfusión de la pituitrina y el extracto 210, no parecía modificar en absoluto la curva que sólo obtendríamos con la primera de las sustancias citadas.

Acción sobre el corazón aislado de rana

Por último, nos ha parecido importante el estudiar la acción de estas sustancias sobre el corazón aislado de rana, según la técnica de STRAUB-FÜHNER, para dilucidar si la acción hipotensora manifestada en el gato, estaba más en relación con una acción cardíaca que con una acción vascular. No hemos ensayado los métodos de perfusión vascular porque, como el de la oreja del conejo aislada, resultaban imposibles con los medios disponibles en el Laboratorio (carecíamos de bomba de perfusión) y otros, como el de TRENDELEMBURG en la rana, por considerarlos de muy escasa exactitud.

Los resultados obtenidos en el corazón aislado son, por otra parte, bastante demostrativos.

Extracto 210. — En la gráfica número 14, se aprecia la acción de este extracto a dosis muy diluídas (1 en 1.000, 1/2 c. c.) mezclado aproximadamente con otro medio existente en la cánula, concentración final por lo tanto 12n 2.000. Puede observarse una acción tónica bastante manifiesta con disminución marcada de la amplitud de las contracciones. En cierta manera puede hablarse de una acción tónica de aparición más rápida y sostenida.

Extracto 214. — La acción de este extracto es mucho menos intensa, no manifestando afecto alguno a las diluciones que antes hemos citado para el extracto 210. En concentraciones más elevadas (1 y 2 por ciento), aparece, según se ve en las gráficas 15 y 16 una disminución de la altura sistólica que también se mantiene mucho tiempo.

Comentario

Las acciones cardíacas que acabamos de reseñar, demuestran que los dos principios activos del ajo que hemos mane-

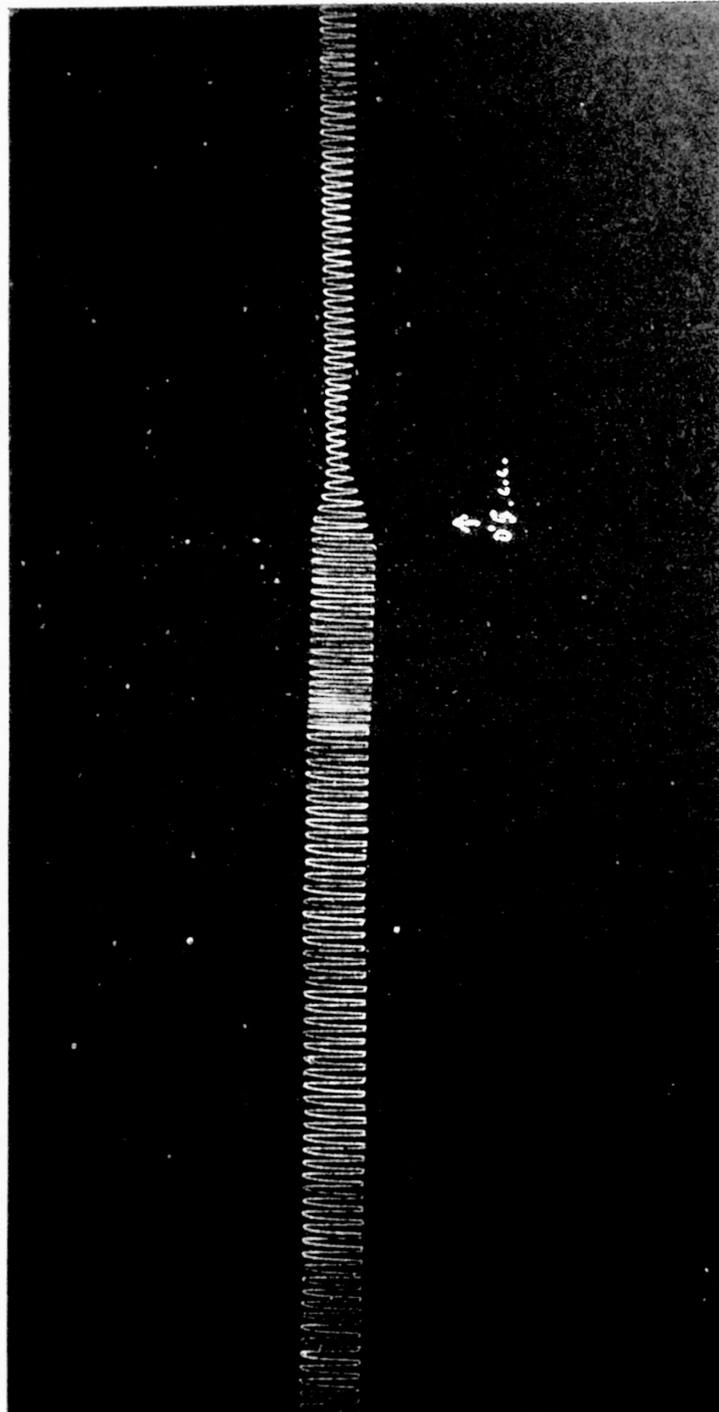
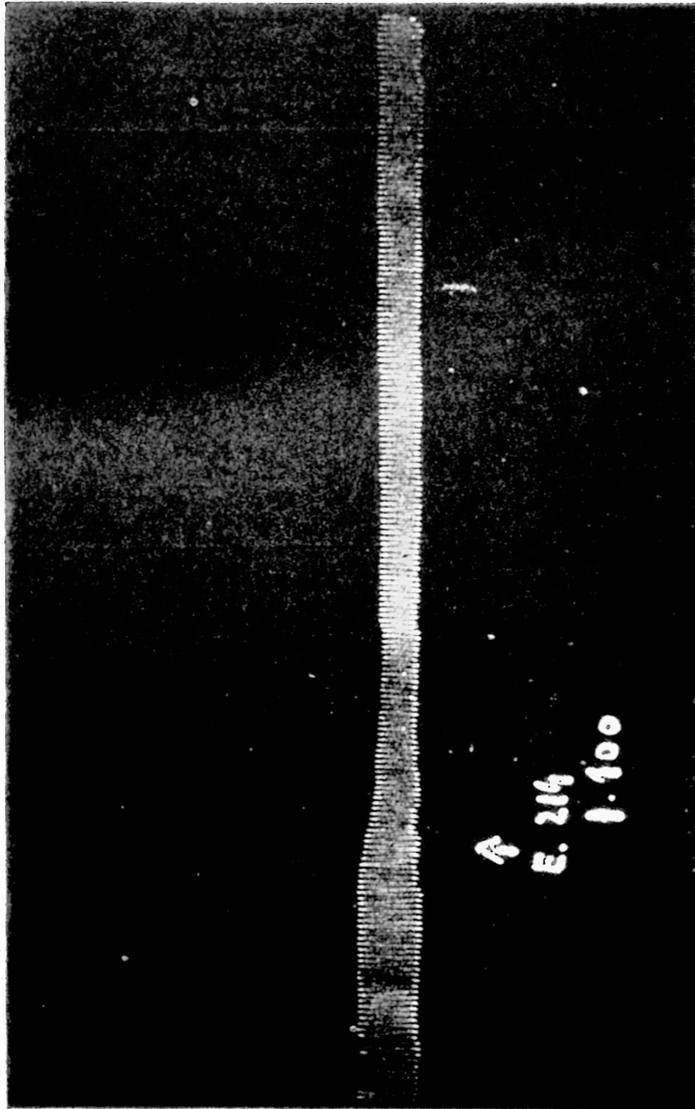


Gráfico 14

jado, tienen poca acción cardíaca. Ahora bien, también aparece la distinta forma de actuar de ambas sustancias.

El extracto 210 tiene una clara acción tónica cardíaca que



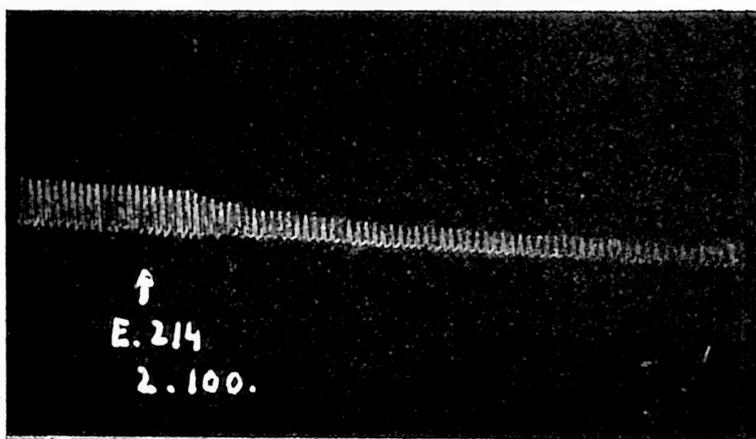
Gráfica 15

bien pudiera ser la causa del ligero aumento de tensión arterial que este extracto produce.

Por el contrario, el extracto 214, resulta muy poco activo.

Podemos con seguridad excluir la participación de un efecto cardíaco en la intensa hipotensión que dicho extracto produce, ya que las concentraciones a las cuales el corazón respondía con tendencia a la hipodinamia (1 y 2 %) no pueden alcanzarse jamás con las dosis utilizadas en nuestras experiencias sobre presión arterial.

Veámos en ellas que 1 c. c. de extracto 214 diluído al 1



Gráfica 16

en 10 tenía una acción hipotensora bastante marcada y 2 c. c. de extracto puro poseía un efecto casi colapsante. Como los animales pesaban alrededor de los 3 kgs. se podía calcular su masa sanguínea en unos 350 c. c.

lo que daría una concentración de 1 en 3.500 en el primero de los casos más arriba citados y de 1 en 175 en el segundo. Ambas dosis no manifiestan acción alguna en concentración *in vitro*.

Conclusiones

- 1.^a Se demuestra la existencia en el ajo de dos sustancias activas con efectos biológicos completamente distintos.
- 2.^a Ambas sustancias se separan fácilmente por su diferente solubilidad en los disolventes.
- 3.^a La substancia antiséptica ya descrita en el ajo es la misma que produce el efecto paralizante en el intestino, ligeramente hipertensora.

4.^a La substancia hipotensora del ajo no tiene ninguna relación con la antiséptica. Sobre el intestino produce un ligero aumento de motilidad y casi sin acción cardíaca.

5.^a Se describe una reacción uterina de difícil interpretación y que no se presenta con constancia.

Summary

From all experimental data outlined in this work we could assure the existence of two substances contained in the *Allium sativum* extract, the biological properties of which can be briefly condensed as follows :

1st. Antiseptic substance, slightly hypotensive bowel paralyzing and weakly cardiac tonic.

2nd. An unantiseptic action substance of no rate, highly hypotensive, weak promoter of intestinal vigour (tone) and almost without cardiac action.

Both active substances have quite a different chemical character, allowing their rather simple segregation.

Zusammenfassung

Aus allen experimentellen Angaben, die in dieser Arbeit aufgeführt werden, können wir mit Sicherheit folgern, dass in den Extrakten von *Allium sativum* zwei aktive Substanzen vorhanden sind, dessen biologische Eigenschaften, kurz zusammengefasst, folgende sind :

1. — Eine mit antiseptischen, leicht blutdruckvermindernden darmlähmenden und etwas herzanregenden Eigenschaften.

2. — Eine andere, die keine antiseptische Wirkung besitzt. Diese verursacht eine starke Blutdruckverminderung, steigert etwas die Tonizität des Darms und hat kaum eine Wirkung auf das Herz.

Beide aktive Substanzen haben ziemlich verschiedene chemische Eigenschaften, was mit relativer Leichtigkeit ihre Darstellung gestattet.

Bibliografía

- (1) BECHER y FUSSGANGER. — Munch. Med. Wsch. 77, 2, 139, 1930.
- (2) BLANCO y JUSTE. — El Monitor de la Farmacia y Terapéutica. Año 51, Madrid. 20 enero 1945.
- (3) BLAS y MANADA. — Monitor Farmacia. Año 49, núm. 1.286.
- (4) BOECKER. — O. E. Ztsch. F. Hyg. V. Infektionskr. 121, 106, 1938.

- (5) CAÑADELL y GARCÍA VALDECASAS. — Trab. Inst. Nac. Cien. Med. Tomo IV, 1945.
- (6) CAVALLITO. — Buch. Suter. Journal of the American Chemical Soc. Vol. 66 Nov. 44.
- (7) CAVALLITO y BAYLEY. — Journal of the American Chemical Soc. Vol. 66. Número 11, pág. 1.950.
- (8) GRAVERI. — Les éssences naturelles. Paris. E. Dunod. 1929.
- (9) DELVILLE. — Tesis Paris, 1927.
- (10) DOMBRAY y VLAICOVITCH. — Cont. Rend. Soc. Biol. 1924, 90, 1428.
- (11) DORVAULT. — Posología del ajo. Moletín Med. Farm. Coruña. Nov. 1926. pág. 32.
- (12) FERNÁNDEZ DE LA FUENTE. — Hojas divulgadoras. Año 1944, núm. 44.
- (13) FISCHER (citado por MANGRANÉ en ponencia 1.^{er} Congreso Nacional de Sanidad, 1945). — Enciclopedia Universal Ilustrada, pág. 854. Tomo 3.
- (14) FRENKEL y LENITZKAJA (citado por MARCOVICI). — Trabajo; Wien klin Wsch. 28, 993.
- (15). FUS. — Schweiz. Z. Pth. 1941.
- (16) GLASSER y DROBNIK. — Naunyn Schmideberg, 1939, 193, B. 117, 633.
- (17) GODOY. — El ajo en terapéutica dermatológica. Rev. Argent. Dermosit. pag. 1.188, año 1942.
- (18) GONZÁLEZ FRAGOSO, ALFONSO LUISIER, FONT QUER. — Historia Natural. Tomo III Botánica.
- (19) GUILLAUME y BEGON. — An. Farmac. France. Enero-abril, año 1944. 1. 1. num. 1.
- (20) HANS v. EULER y MAC MALBERG. — Hopper-Seylés Zeitschrift für Physiologische chemie, núm. 254-55-50, 1938.
- (21) HERNANDO (citado por CAÑADELL y GARCIA VALDECASAS. — Trab. Ins. Nac. Cien. Med. Tomo IV, 1945.
- (22) HINTZELMANN. — Arch. exp. Path. Pharm., 1935. Vol. 178. Pág. 480.
- (23) JACOBSON. — Z. Microbiol. Epid. Inmun. (U. R. S. S.), 17, 584, 1930.
- (24) KARSTEN. — Lerboch der Botanik, 1922.
- (25) KOLLE, LAUBENHEIMER y VOLMAR. — wissenschaftl-W 14:1 Frankfurth Probleme der Bach Inmunitatssienre. y. exp. Therapie. 111-1, 1935.
- (26) KRETSCHMER. — Munch. med. Woch. 82-1613, 1935.
- (27) LEHMANN. — Smideberg Arc. 147-245, 1930.
- (28) LOEPER, DEBRAY y RONILLARD. — Press. med. 1922-473.
- (29) LOEPER y DEBRAY. — Del ajo. Soc. Biog. Paris, 1927.
- (30) MANGRANÉ. — Ponencia I Congreso Nac. Sanidad, 1935.
- (31) MARCOVICI. — Medical Record, 153-63 (1941), núm. 2. (Lo prescribe como hipotensor.)
- (32) MAY. — Fortschz d. Therapi, 3-762, 1927.

- (33) MAYERHOFER. — Arch. Kinderheilk, 1943, 102. Pág. 106.
- (34) MICHAELIS. — Citado por Dombray y Vlaicovitch.
- (35) MINCHIN. — Sup. Dorvault, 1919-39, pag. 265.
- (36) NOETHER. — Munch, Med. Wschr, 1925
- (37) NOHLEN. — Deutsche Tierarztl Wschr. 38 : 113, 1938.
- (38) ORTNER. — Arztl. Rundschau, 39-249 (1929).
- (39) ORZECZOWKI, SCHREIBER, NAVNIN SCHMID. — Arch. 175, año 1924.
- (40) PAIMBRAM. — Citado por Marcovici. — Trabajo : Wien klin Wschr. 28-993.
- (41) PARRINO y DOMINICI. — Annal. d'ig. núm. 1, 1927.
- (42) PERRIN, DOMBRAY y VLAICOVITCH. — Cont. Rend. Soc. Biol. 90. Pág. 1431, 1924.
- (43) PEYER. — Suddeutsche Apotheker-Zeitung. 72 : 573, 1927.
- (44) ROOS. — Munch. Med. Wschr. 72-1637, 1925.
- (45) RUNGOIST. — Citado por Hager en Trat. Farmacia Práctica, año 1942.
- (46) SABRAZES. — Citado por Dombray y Vimicovitch.
- (47) SHANG. — Rev. Med. Vet. Buenos Aires, 13-138, 193.
- (48) SCHINDEL. — Arch. f. exp. Path. u Pharmakol, 175-313, año 1934.
- (49) SEMMELR. — Veber das atherische o el des Knoblanck-Arch. de Phar. 1892, 230, pag. 434.
- (50) SCHLEOINGER. — wien med. wschr. 76, 1076, 1926.
- (51) SCHMID y MARQUARDT. — Zentralbl. f. Bakt. 138, 104, 1935.
- (52) SCHRADER. — Der Praktische Arz. 12, 414, 1927.
- (53) SCHUBERT. — Dig. medizinische welt, 1931, num. 1.
- (54) SCHWAHN. — Schweiz med. Wschr. 58, 104, 1928.
- (55) SERREL, COOKE y GABRIEL. — Sup. Dorvault. 1917. Pág. 7.
- (56) STORERS. — Citado por Dombray y Vlaicowitch.
- (57) TOKIN. — Noticiario médico, num. 15, X, 44. E. E. U. U. Casa Americana.
- (58) TOROPTSEU y FILATOVA. — Noticiario Médico núm. 15, octubre 1944. Publicado Casa América E. E. U. U.
- (59) TOSCANO RICO. — Com. Rend. Soc. Biolog. 1926, 94, 1597.
- (60) VANNI. — Minerva Médica, 33. vol. 1, 280, 1942.
- (61) VELÁZQUEZ. — Trat. Farmacolog.
- (62) VINCENT. — Journal de Med. de Lyon, 1925.
- (63) WAUG. — D. M. Times, 66 ; 115, 1938.
- (64) WHERTEIM. — Citado por Blasco Yuste en Monitor Farmacia, 1945. Núm. 1359.
- (65) YARUSSOWA y LANOWSKAJA. — Unter Lebensmitt. Moscou, 68, 394, 95, 1934.
- (66) YUN y RHEE. — J. Severance. Un med. Coll. 1933. — B. 1934, 78.