



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

"Evaluación de Algunos Factores que Modifican el Efecto del Pentobarbital en Ratones"

TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el título de

QUIMICO FARMACOBIOLOGO

Presenta

PAULA DELIA GARCIA RUIZ

Asesorada por

M. C. ROSA DEL CARMEN MILAN SEGOVIA

M. C. MA. ESTHER FLORES MORENO



SAN LUIS POTOSI, S. L. P.

1994

FL

QP981

B3

G3

c.1



1080076420



**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS**

**LABORATORIO DE FARMACOLOGIA Y BIOFARMACIA**

**"Evaluación de Algunos Factores que Modifican el Efecto del Pentobarbital en Ratones"**

**TESIS PROFESIONAL**

Que para obtener el título de

**QUIMICO FARMACOBIOLOGO**

Presenta

**PAULA DELIA GARCIA RUIZ**

Asesorada por

**M. C. ROSA DEL CARMEN MILAN SEGOVIA**

**M. C. MA. ESTHER FLORES MORENO**



**SAN LUIS POTOSI, S. L. P.**

**1994**

T  
9/2/98  
033  
/ 33



ADIOS

CON AMOR A MIS PADRES

NARCISO GARCIA ALFARO  
ANTONIA RUIZ DE GARCIA

POR SU APOYO INCONDICIONAL EN TODO MOMENTO.

A MIS HERMANOS

NORMA	ROSARIO
BEATRIZ	JOSE GPE.
NARCISO	CARMEN
PATRICIA	HUGO
ANTONIO	

A MI ABUELITA

HERMILA RUIZ GARCIA

A MIS FAMILIARES Y AMIGOS

CON PROFUNDO AGRADECIMIENTO A:

MI ASESORA M.C. ROSA DEL CARMEN MILAN SEGOVIA Y CO-ASESORA M.C. Ma.  
ESTHER FLORES MORENO, POR SU INVALUABLE APOYO A LA REALIZACION DE  
LA PRESENTE TESIS.

A TODO EL PERSONAL DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS QUE DE UNA  
U OTRA MANERA CONTRIBUYERON A LA REALIZACION DEL PRESENTE  
TRABAJO.

## INDICE

## PAGINA

RESUMEN

i

### CAPITULO 1 INTRODUCCION

1.1. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACION

1

1.2. OBJETIVO GENERAL

2

1.3. OBJETIVOS PARTICULARES

2

### CAPITULO 2 GENERALIDADES DE LOS BARBITURICOS

2.1. NATURALEZA QUIMICA DE LOS BARBITURICOS Y RELACION  
ESTRUCTURA ACTIVIDAD

3

2.2. PROPIEDADES FISICOQUIMICAS

4

2.3. FARMACOCINETICA

5

2.4. FARMACODINAMIA

10

2.5. USOS TERAPEUTICOS

11

2.6. EFECTOS COLATERALES

12

2.7. TOLERANCIA

12

2.8. DEPENDENCIA.

13

2.9. CONCENTRACIONES TERAPEUTICAS Y TOXICAS

13

2.10. ALGUNAS PRESENTACIONES FARMACEUTICAS Y NOMBRES  
COMERCIALES

13

2.11. LEY DE LAS SUSTANCIAS CONTROLADAS

14

### CAPITULO 3 DESARROLLO EXPERIMENTAL Y RESULTADOS

3.1. ANIMALES DE EXPERIMENTACION, EQUIPO Y MATERIALES

15

3.2. MANEJO E IDENTIFICACION DE LOS ANIMALES

16

<b>3.3 VIAS Y TECNICAS DE ADMINISTRACION ESTUDIADAS</b>	<b>17</b>
<b>3.4 ESTIMACION DE LA DURACION DEL EFECTO FARMACOLOGICO</b>	<b>19</b>
<b>3.5 INFLUENCIA DE ALGUNOS FACTORES EN LA OBTENCION DEL EFECTO FARMACOLOGICO</b>	<b>20</b>
<b>3.6 INFLUENCIA DE LA VIA DE ADMINISTRACION EN RATONES DE DIFERENTE SEXO</b>	<b>22</b>
<b>3.7 EFECTO DE LA PRESENCIA DE OTROS COMPUESTOS EN LA DURACION DEL EFECTO DEL PENTOBARBITAL SODICO</b>	<b>24</b>
<b>3.8 ENSAYOS PARA ESTUDIAR LA RELACION DOSIS-RESPUESTA CUANTAL</b>	<b>33</b>
<b>CAPITULO 4 DISCUSION DE RESULTADOS</b>	
<b>4.1 MANEJO E IDENTIFICACION DE LOS ANIMALES</b>	<b>47</b>
<b>4.2 VIAS Y TECNICAS DE ADMINISTRACION ESTUDIADAS</b>	<b>47</b>
<b>4.3 ESTIMACION DE LA DURACION DEL EFECTO</b>	<b>47</b>
<b>4.4 INFLUENCIA DE ALGUNOS FACTORES EN LA OBTENCION DEL EFECTO FARMACOLOGICO</b>	<b>48</b>
<b>4.5 EFECTO DE LA PRESENCIA DE OTROS COMPUESTOS EN LA DURACION DEL EFECTO DEL PENTOBARBITAL SODICO</b>	<b>51</b>
<b>4.6 ENSAYOS PARA ESTUDIAR LA RELACION DOSIS-RESPUESTA CUANTAL</b>	<b>53</b>
<b>CAPITULO 5 CONCLUSIONES</b>	<b>56</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>58</b>



## INDICE DE TABLAS

3.1. ESTIMACION DE LA DURACION DE EFECTO FARMACOLOGICO DEL PENTOBARBITAL SODICO EN RATONES MACHOS	19
3.2. DURACION DEL EFECTO FARMACOLOGICO DEL PENTOBARBITAL SODICO EN RATONES MACHOS EMPLEANDO SOLUCIONES DE pH = 9.04 Y 9.55	20
3.3. DURACION DEL EFECTO FARMACOLOGICO DEL PENTOBARBITAL SODICO EN RATONES MACHOS EN AYUNO Y CON ALIMENTO <i>Ad libitum</i> , Y A DIFERENTES pH	21
3.4. DURACION DEL EFECTO FARMACOLOGICO DEL PENTOBARBITAL SODICO ADMINISTRADO POR DIFERENTES VIAS EN RATONES HEMBRAS Y MACHOS	23
3.5. EFECTO DE LA AUTOINDUCCION METABOLICA CON PENTOBARBITAL SODICO EN DOSIS DE 55 mg/Kg EN LA DURACION DEL TIEMPO DE HIPNOSIS	25
3.6. AUTOINDUCCION METABOLICA CON PENTOBARBITAL SODICO EN DOSIS DE 40 mg/Kg DURANTE 5 DIAS Y DOSIS DE 55 mg/Kg EL SEXTO DIA	27
3.7. DURACION DE LA HIPNOSIS CON PENTOBARBITAL SODICO DESPUES DE INDUCIR EL METABOLISMO CON FENOBARBITAL SODICO DURANTE 3 Y 4 DIAS EN RATONES DE AMBOS SEXOS	29
3.8. EFECTO DEL pH DE LA SOLUCION DE SKF SOBRE EL TIEMPO DE HIPNOSIS EN RATONES HEMBRAS Y MACHOS	31
3.9. EFECTO DEL CCl <sub>4</sub> EN LA DURACION DEL TIEMPO DE HIPNOSIS DURANTE 3 Y 4 DIAS EN RATONES HEMBRAS Y MACHOS	32
3.10. RESPUESTA TODO O NADA PARA EL PENTOBARBITAL SODICO EN RATONES HEMBRAS (ASIGNACION ALEATORIA)	34
3.11. RESPUESTA TODO O NADA PARA EL PENTOBARBITAL SODICO EN RATONES MACHOS (ASIGNACION ALEATORIA)	35
3.12. CULEBRA JAPONESA PARA LA ASIGNACION DE DOSIS	41
3.13. RESPUESTA TODO O NADA PARA EL PENTOBARBITAL SODICO EN RATONES HEMBRAS (ASIGNACION CULEBRA JAPONESA)	42

3.14 RESPUESTA TODO O NADA DEL PENTOBARBITAL SODICO EN RATONES MACHOS (ASIGNACION CULEBRA JAPONESA)	43
3.15 PARAMETROS DE SEGURIDAD DEL PENTOBARBITAL SODICO ADMINISTRADO POR VIA I.P. A RATONES	46
4.1 ANALISIS ESTADISTICO PARA LA DURACION DEL EFECTO FARMACOLOGICO EN RATONES MACHOS EN AYUNO CONTRA RATONES ALIMENTADOS <i>Ad libitum</i> , A DOS VALORES DE pH	49
4.2 ANALISIS ESTADISTICO PARA DURACION DEL EFECTO FARMACOLOGICO DEL PENTOBARBITAL SODICO ADMINISTRADO POR 3 VIAS EN RATONES HEMBRAS Y MACHOS	50
4.3 VALORES DE DE50 Y DL50 CON LIMITES DE CONFIANZA AL 95% CALCULADOS POR EL METODO DE LITCHFIELD Y WILCOXON	55

### INDICE DE FIGURAS

2.1 FORMULA DEL FENOBARBITAL, AMOBARBITAL, PENTOBARBITAL Y TIOPENTAL	4
2.2 ESQUEMA DEL METABOLISMO DEL FENOBARBITAL	6
2.3 ESQUEMA DEL METABOLISMO DEL PENTOBARBITAL	7
2.4 FORMULA DEL SKF-525A	9

## INDICE DE GRAFICAS

III.1.EFECTO DE LA AUTOINDUCCION METABOLICA DEL PENTOBARBITAL SODICO EN DOSIS DE 55 mg/Kg DE PESO EN LA DURACION DEL TIEMPO DE HIPNOSIS	26
III.2.CURVA DE DOSIS EFECTO PARA EL PENTOBARBITAL SODICO ADMINISTRADO A RATONES HEMBRAS POR VIA I.P.	36
III.3.DETERMINACION DE DE50 Y DL50 PARA EL PENTOBARBITAL RATONES HEMBRAS	37
III.4. CURVA DE DOSIS EFECTO PARA EL PENTOBARBITAL SODICO ADMINISTRADA POR VIA I.P. A RATONES MACHOS	38
III.5.DETERMINACION DE DE50 Y DL50 PARA EL PENTOBABRITAL EN RATONES MACHOS	39
III.6.EVALUACION DE LA SEGURIDAD DEL PENTOBARBITAL SODICO EN RATONES HEMBRAS EN ASIGNACION DE DOSIS "CULEBRA JAPONESA"	44
III.7.EVALUACION DE LA SEGURIDAD DEL PENTOBARBITAL SODICO EN RATONES MACHOS EN ASIGNACION DE DOSIS "CULEBRA JAPONESA"	45

## **RESUMEN.**

Los barbitúricos son fármacos que tienen una aplicación muy amplia en la experimentación farmacológica, específicamente en aspectos relacionados con estudios de las relaciones dosis-respuesta graduales, cuantales e interacciones metabólicas. En el presente trabajo se evaluaron diversos factores que influyen en la duración del efecto farmacológico a nivel de sedación e hipnosis, y en la producción de la letalidad que provoca el pentobarbital sódico en ratones albinos. Entre esos factores se estudiaron el modo de preparación de las soluciones del fármaco en cuanto al valor de pH, la vía de administración empleada, la influencia del sexo de los animales y la presencia de alimento.

Se demostró la interacción metabólica del pentobarbital con el fenobarbital, con el proadifeno y con el tetracloruro de carbono al alterarse la duración del efecto hipnótico que produce. Todos los resultados se analizaron a un nivel de significancia estadística de 0.05.

En forma general, la inducción e inhibición metabólicas fueron mejor estudiadas en las hembras en tanto que la relación dosis-respuesta cuantal presentó menos variaciones en los ratones machos.

Para fines académicos se demostró que mediante la asignación de dosis "culebra japonesa" se puede reducir considerablemente la cantidad de animales utilizados en experimentos para determinar la dosis efectiva 50 (DE50) y la dosis letal 50 (DL50) del tipo de respuesta "todo o nada".

# CAPITULO 1

## INTRODUCCION

### 1.1 ANTECEDENTES Y JUSTIFICACION.

Los estudios farmacológicos, basados en la observación de hechos experimentales en organismos vivos, aportan datos cualitativos y cuantitativos sobre el mecanismo de acción de numerosos tipos de fármacos. Es por eso que el uso de animales en la experimentación farmacológica y farmacéutica se ha revelado de gran utilidad cada vez que se desea desarrollar una nueva molécula con posible aplicación terapéutica, o cuando se trata de esclarecer múltiples aspectos farmacológicos, farmacéuticos y toxicológicos de los medicamentos ya conocidos (Litter, 1986; Poole, 1989).

Aunque en ocasiones la extrapolación de los resultados obtenidos en una o varias especies animales no siempre es aplicable al ser humano, la información obtenida de estudios preclínicos constituye un conocimiento fundamental en la investigación farmacológica del desarrollo farmacéutico.

Si bien no todos los compuestos usados en la experimentación son de utilidad práctica en la clínica, algunos de ellos son empleados porque sirven como prototipos de un grupo de fármacos, o bien porque ilustran un determinado mecanismo de acción farmacológica al ser administrados a diferentes especies animales.

Un ejemplo de lo anterior lo constituyen algunos compuestos derivados del ácido barbitúrico, el cual carece de actividad farmacológica en tanto que sus derivados tienen propiedades hipnótico-sedantes o anticonvulsivas que son de interés para la clínica o para la experimentación farmacológica.

En la terapéutica médica, el empleo de los barbitúricos ha descendido en los últimos años salvo como anestésicos generales y antiepilépticos, en tanto que su aplicación en investigación farmacológica, toxicológica y en las demostraciones experimentales de Farmacología General realizadas en animales ha merecido un gran interés al dilucidar diversos aspectos de farmacocinética y de interacciones farmacológicas a nivel de metabolismo microsomal hepático (Ho, 1981; Ohnhaus, 1983).

De la amplia gama de barbitúricos, los más frecuentemente empleados en las demostraciones prácticas de Farmacología son el pentobarbital y el fenobarbital. Ambos fármacos administrados a animales de experimentación se emplean para demostrar la relación concentración plasmática-magnitud del efecto farmacológico que producen y se aplican también en estudios de la inducción metabólica a que dan lugar tras su administración repetida. Su uso se extiende además para determinar la dosis efectiva cincuenta (DE50) y la dosis letal cincuenta (DL50) en procedimientos del tipo cuantal.

Existen varios factores que influyen sobre la actividad farmacológica de estos fármacos. Algunos de esos factores incluyen aspectos químicos relacionados con su estructura química; aspectos fisicoquímicos que dependen de su solubilidad, de su grado de ionización, etc.; y aspectos fisiológicos que se relacionan con su distribución en el organismo, con su cinética metabólica y de excreción, y con la variabilidad biológica del organismo al que se administra (Goodman, 1991).

Como parte del programa de sesiones prácticas del curso de Farmacología, se realizan demostraciones generales y básicas de la obtención del efecto farmacológico producido por el fenobarbital y el pentobarbital sódicos administrados a ratones albinos. No obstante, se ha estimado de importancia determinar la influencia que tiene sobre la obtención y duración del efecto hipnótico, algunos factores relacionados con la vía y modo de administración, con el sexo, con la presencia de alimento y con interacciones a nivel metabólico entre los mencionados barbitúricos y entre éstos y otros compuestos de interés en Farmacología experimental a nivel laboratorio.

El propósito de estudiar estos factores obedece a la necesidad de establecer las mejores condiciones de trabajo en el laboratorio para lo cual, fundamentalmente se han establecido los siguientes objetivos.

## **1.2 OBJETIVO GENERAL.**

Evaluar a nivel demostrativo experimental la influencia de algunos factores fisicoquímicos y fisiológicos en la duración del efecto hipnótico producido por el pentobarbital sódico en ratones albinos.

## **1.3 OBJETIVOS PARTICULARES.**

**1.3.1** Estimar el tiempo de latencia, sedación e hipnosis producido por el pentobarbital sódico en cuanto a:

- Variables fisicoquímicas de concentración y pH de las soluciones administradas, dosis, modo y vías de administración.
- Factores fisiológicos de sexo y presencia o ausencia de alimento.

**1.3.2** Determinar la significancia estadística de cada factor anterior y establecer las mejores condiciones experimentales para lograr la inducción e inhibición metabólicas empleando pentobarbital, fenobarbital, proadifeno (SKF) y tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>).

**1.3.3** Evaluar los parámetros cuantales DE50 y DL50 en ratones para el pentobarbital sódico utilizando un número reducido de animales.

## CAPITULO 2

### GENERALIDADES DE LOS BARBITURICOS.

Debido al amplio uso de los barbitúricos en demostraciones prácticas de las bases de Farmacología, éstos han sido estudiados en el presente trabajo en aspectos fundamentales de farmacocinética, especialmente relacionados con los procesos de absorción, distribución, metabolismo y eliminación de fármacos.

El grupo de los barbitúricos comprende una amplia gama de compuestos de diferentes características fisicoquímicas y farmacológicas, de tal forma que el fenobarbital y el pentobarbital son los más empleados para esclarecer los aspectos farmacológicos arriba mencionados.

A continuación se hace referencia a algunos conceptos de importancia farmacológica de los barbitúricos y que se relacionan con los parámetros estudiados en esta investigación.

#### 2.1 NATURALEZA QUIMICA DE LOS BARBITURICOS Y RELACION ESTRUCTURA-ACTIVIDAD.

Los barbitúricos son sustancias de origen sintético que corresponden químicamente a la clase de los ureídos cíclicos o diureídos (Daniels, 1977). Reciben este nombre por que derivan del ácido barbitúrico o malonil urea el cual es el resultado de la condensación de la urea y del ácido malónico para dar lugar al anillo de pirimidina.

##### 2.1.1. CLASIFICACION.

Se clasifican en cuatro grupos de acuerdo a la duración de su acción según Tatum (Daniels, 1977).

- a) **Acción Prolongada** ( más de 6 horas). El compuesto principal de este grupo es el fenobarbital, útil como anticonvulsionante (ver Fig. 2.1 a).
- b) **Acción Intermedia** ( de 3 a 6 horas). El fármaco más importante es el amobarbital (ver Fig. 2.1 b).
- c) **Acción Corta** ( menos de 3 horas). Uno de los más importantes es el pentobarbital cuyo uso se ha limitado al de anestésico veterinario (ver Fig. 2.1 c)

d) **Acción Ultracorta.** El prototipo es el tiopental el cual es empleado por vía intravenosa como inductor de la anestesia general (ver Fig. 2.1 d).

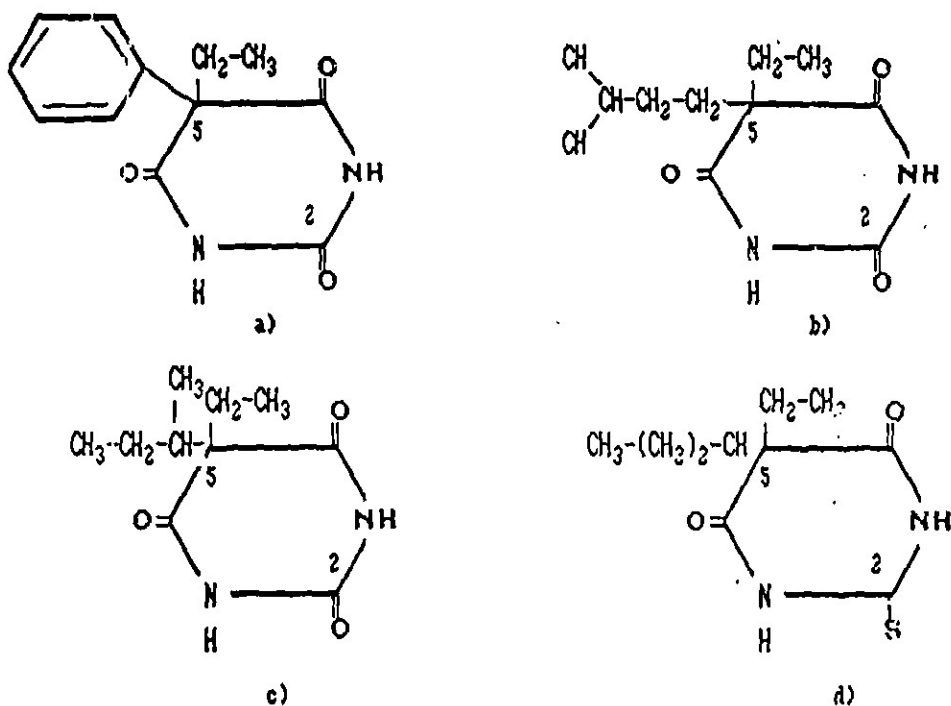


FIGURA 2.1 a) FENOBARBITAL, b) AMOBARBITAL, c) PENTOBARBITAL Y d) TIOPENTAL.

## 2.2. PROPIEDADES FISICOQUIMICAS.

**Descripción:** En general los barbitúricos se presentan como pequeños cristales polimorfos brillantes o blancos (Kirt, 1992); el fenobarbital también se presenta como polvo cristalino blanco (Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 1988).

**Solubilidad:** Los barbitúricos en forma de ácidos libres son poco solubles en agua, siendo más bien liposolubles. Son solubles en propilenglicol medio en el cual son estables (Daniels, 1977).

Un gramo de fenobarbital se disuelve en 1000 mililitros de agua, en 10 mililitros de alcohol etílico, en 40 mililitros de cloroformo y en 5 mililitros de éter etílico; además este fármaco es soluble en soluciones de hidróxidos y carbonatos alcalinos (Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 1988).

Por otro lado el pentobarbital es poco soluble en agua, pero soluble en éter y en soluciones alcohólicas.



Las sales sódicas son muy hidrosolubles y forman soluciones acuosas alcalinas en un rango de pH de 9 a 11 aunque las mismas son inestables y se descomponen dando lugar a la formación de acil ureas o aciltioureas con pérdida de la actividad farmacológica. Específicamente el fenobarbital es estable durante 4 días a temperatura ambiente. En soluciones con pH igual a 4 o menor los barbitúricos se mantienen estables por tres meses mínimo en refrigeración.

**pKa:** Varía de 7.2 a 9.1 (Mark, 1963); para el fenobarbital la constante de disociación varía entre 7.2 a 7.4 y para el pentobarbital es de 8.1 (Katzung, 1991).

## **2.3 FARMACOCINETICA.**

### **2.3.1. VIAS DE ADMINISTRACION.**

Para usos hipnóticos, los barbitúricos se administran generalmente por vía oral. La vía intramuscular se utiliza cuando no es posible o se hace difícil la vía oral, aunque debe evitarse por la alcalinidad de los preparados solubles que causan dolor y necrosis en el sitio de inyección. La vía intravenosa puede utilizarse con toda inocuidad si se hace la inyección muy lentamente para tratar emergencias convulsivas o anestesia general. En lactantes la vía parenteral es la más utilizada aunque la vía rectal se usa ocasionalmente (Andrews, 1982).

Experimentalmente los barbitúricos son administrados por vía intraperitoneal en ratones para provocar anestesia quirúrgica en dosis de 40 a 70 mg/Kg, con 20 a 30 minutos de duración. (Miller, 1969).

### **2.3.2. ABSORCION.**

La absorción oral de los barbitúricos es completa pero algo lenta, siendo la disolución y la dispersión del fármaco en el contenido gastrointestinal el paso limitante de la absorción. A pesar de que los barbitúricos se ionizan en medio alcalino la absorción tiene lugar principalmente en el intestino por la gran superficie de absorción de éste (Bowman, 1984; Andrews, 1982).

### **2.3.3. DISTRIBUCION.**

Una vez que los barbitúricos alcanzan la circulación sistémica, se localizan en los diferentes tejidos y líquidos del cuerpo; más aún cruzan la barrera placentaria y se distribuyen

ampliamente en los tejidos fetales. Los barbitúricos están unidos en grado variable a la albúmina plasmática, de tal forma que el fenobarbital está ligado 40 a 60% a proteínas plasmáticas y en el mismo grado a los tejidos, principalmente al encéfalo. Su volumen de distribución es de aproximadamente 0.5 L/Kg (Goodman, 1991).

Por otra parte la fracción libre del pentobarbital es de 65 a 70% por lo que se fija a proteínas en menor proporción siendo su volumen de distribución de  $1.9 \pm 0.5$  L/Kg (Mark, 1963).

### 2.3.4. METABOLISMO.

Intervienen en el metabolismo de los barbitúricos:

a) Los microsomas hepáticos del retículo endoplásmico liso (REL). El metabolismo microsomal consiste en la oxidación de cadenas laterales de la posición 5 de su estructura química para formar alcoholes y fenoles, los cuales aparecen en la orina como conjugados glucurónicos (Bowman, 1984). Otro tipo de la reacción metabólica, la glucosilación, incluye la unión directa de la glucosa en los átomos de nitrógeno N3 o N1 para formar derivados hidrosolubles que pueden ser eliminados en riñón. Estas reacciones constituyen la biotransformación más importante de los barbitúricos (Andrews, 1982; Katzung, 1991).

b) La oxidación ulterior a cetonas y ácidos carboxílicos. Esta se produce por acción de enzimas contenidas en la fracción soluble del citosol (Andrews, 1982).

Específicamente las reacciones metabólicas del fenobarbital y pentobarbital están indicadas en las Figuras 2.2 y 2.3.

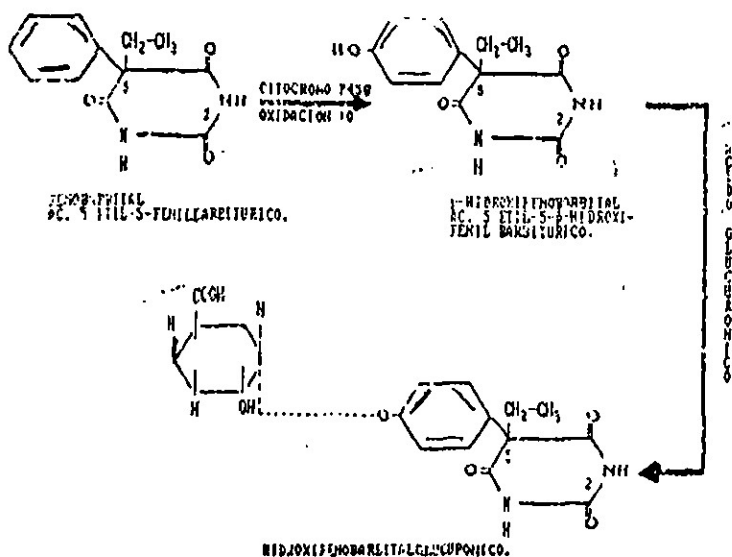


FIGURA 2.2 METABOLISMO DEL FENOBARBITAL.

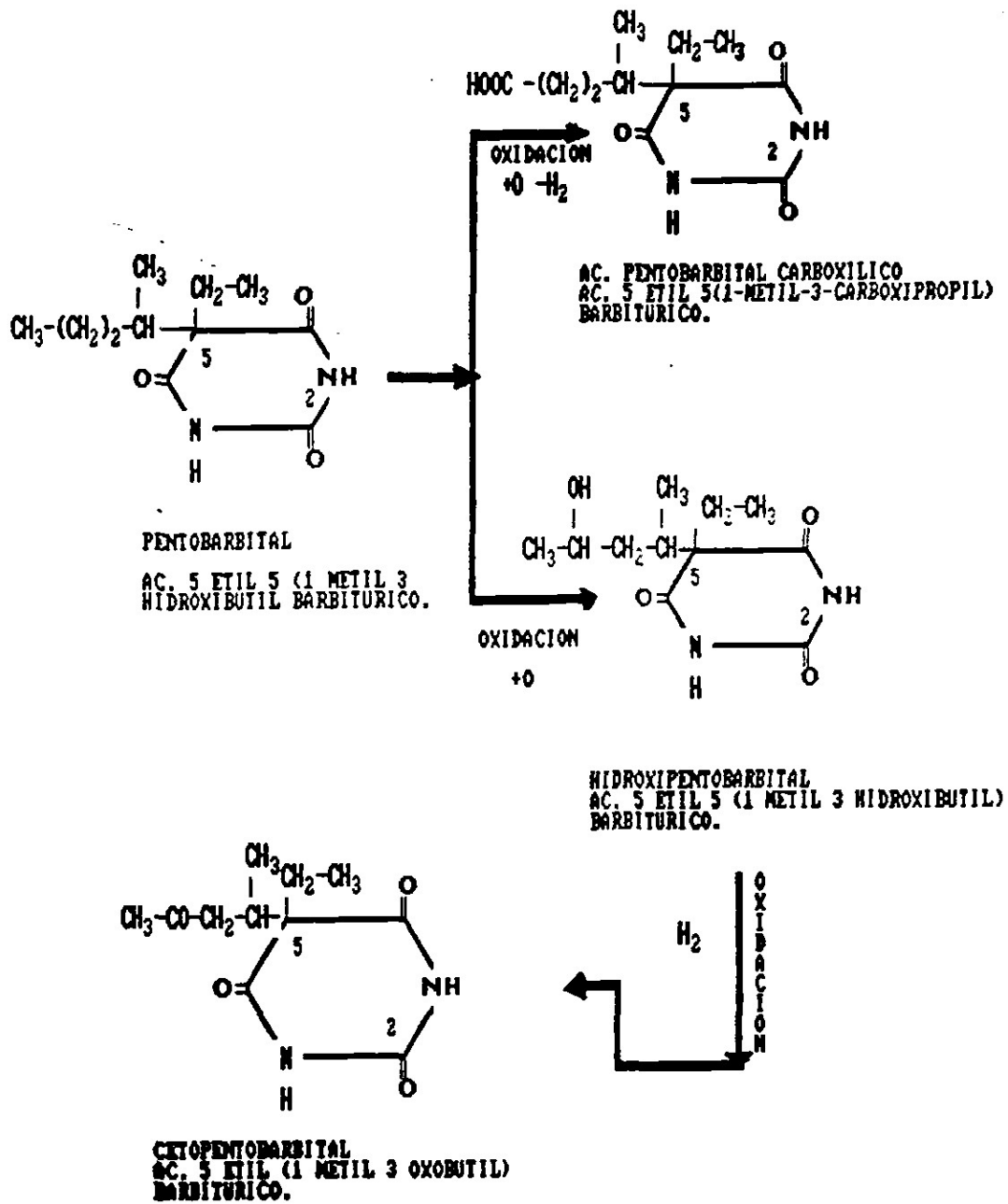


FIGURA 2.3 METABOLISMO DEL PENTOBARBITAL.

Se ha demostrado (Craig, 1971) que el primer metabolito del fenobarbital, el p-hidroxifenobarbital, posee cierta actividad anticonvulsiva, aunque ésta no contribuye en forma significativa al efecto terapéutico del compuesto original.

### **2.3.4.1 INDUCCION METABOLICA.**

En forma general, los procesos oxidativos del metabolismo y eliminación de compuestos exógenos comprenden en su mayoría, primero una reacción de oxidación en la que participan monooxigenasas dependientes del citocromo P-450 y posteriormente, la eliminación de ese producto conjugado con el ácido UDP-glucurónico, con el sulfato o con el glutation (Fig. 2.2).

Algunas enzimas que intervienen en el metabolismo microsomal hepático pueden ser inducidas por fármacos o agentes químicos como los hidrocarburos policíclicos mediante un aumento de su síntesis proteica ( Crestel, 1986; Ohnhaus, 1983; Whitlock, 1986). El aumento de la actividad enzimática trae como consecuencia un incremento de la biotransformación del fármaco inductor y la de los otros compuestos presentes debido a la inespecificidad del sistema.

Así por ejemplo, algunos barbitúricos como el fenobarbital, pentobarbital y tiopental tienen la propiedad de aumentar la actividad de enzimas que metabolizan a otros fármacos tales como los anticoagulantes orales, tranquilizantes, hipnoanalgésicos, analgésicos antipiréticos y a los propios barbitúricos. El mecanismo metabólico se traduce en un aumento del número de hepatocitos, del REL por consiguiente de los microsomas hepáticos, del ácido ribonucleico mensajero, del citocromo P-450 y en general de todos los elementos que intervienen en la biosíntesis de dichas enzimas. Esto hace que la actividad de los fármacos antes mencionados disminuya en forma manifiesta (Bowman, 1984).

Varios investigadores han estudiado el mecanismo de acción por el cual el fenobarbital altera el contenido celular del citocromo P-450. El mecanismo involucrado se manifiesta en una estimulación de la incorporación de aminoácidos en la proteína del citocromo mediante un incremento de la velocidad de la transcripción de su gene; aunque desafortunadamente este mecanismo de transcripción se desconoce en gran parte (Whitlock, 1986).

Por lo general, un inductor no sólo incrementa la síntesis de una sola isoenzima; en el caso del fenobarbital, Crestel (1986) menciona que este fármaco promueve la síntesis de al menos 3 isoenzimas.

Experimentalmente el pretratamiento de ratas con fenobarbital durante 3 a 4 días provoca un aumento en el peso del hígado y un aumento en su contenido microsomal con un incremento en la síntesis proteica. Sin embargo, el incremento del tamaño hepático no siempre es constante y tampoco guarda relación constante con el aumento de la masa hepática, ya que este último se debe tanto a hipertrofia como a hiperplasia (Esplugues, 1982; Jelleff, 1982).

### 2.3.4.2 INHIBICION METABOLICA.

La inhibición del sistema microsomal enzimático incide en un aumento de las concentraciones plasmáticas y tiempo de vida media de los fármacos que son metabolizados en el hígado de forma tal que los efectos de los fármacos se ven aumentados y/o prolongados (Boehring, 1984; Esplugues, 1982)

Son pocas las sustancias conocidas que poseen un efecto marcadamente inhibitorio del metabolismo del sistema microsomal enzimático de los barbitúricos y de diversos fármacos como la meperidina, la aminopirina y la codeína. Ninguno de esos inhibidores tiene aplicaciones clínicas, pero son de gran ayuda en estudios de investigación. Uno de estos compuestos es el  $\beta$ -dietil aminoetil difenilpropilacetato o proadifeno (Fig. 2.4) más comunmente conocido con su número de codificación comercial SKF-525 A (Goldstein, 1979).

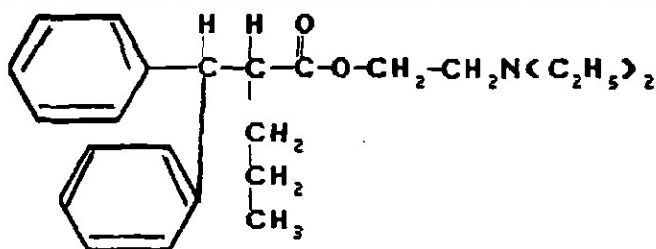


FIGURA 2.4 SKF-525A.

El SKF-525A administrado a ratas, previamente al hexobarbital y a otros barbitúricos, prolonga el tiempo de hipnosis inducido por estos fármacos. Aunque no se conoce con exactitud su mecanismo de acción, se sabe que en ocasiones la inhibición enzimática es de tipo competitivo, otros no competitivo y finalmente de tipo mixto (Espugles, 1982).

Por otro lado, la capacidad metabolizadora del hígado puede verse seriamente inhibida cuando hay un daño severo en el hígado. A este respecto se considera el efecto que producen algunos compuestos empleados como solventes orgánicos entre los cuales está el tetracloruro de carbono ( $\text{CCl}_4$ ) (Kalf, 1987; Lock, 1989).

Anteriormente, el  $\text{CCl}_4$  fue usado como antihelmíntico y el cloroformo ( $\text{CHCl}_3$ ), como gas anestésico. Ambos compuestos pueden provocar necrosis hepática en forma tal que inhiben indirectamente tanto el metabolismo de compuestos endógenos como el de exógenos. El mecanismo de acción posiblemente involucra un metabolito activo del  $\text{CCl}_4$  que se une en forma covalente con proteínas y lípidos causando una necrosis centrilobular por peroxidación de lípidos. Las investigaciones de Butter (Gillette, 1974) han señalado que en este caso se forman los radicales libres  $\text{CCl}_3\cdot$  y  $\text{Cl}\cdot$  a partir del  $\text{CCl}_4$  en reacciones mediadas por enzimas del citocromo P-450.

Otros inhibidores del tipo SKF 525A, relacionados con la actividad enzimática microsomal hepática, sólo se conocen por sus nombres de serie de laboratorio; a continuación se mencionan algunos de ellos: Lilly 18947, CFT 1201, CFT 1042, Sch 5705, Sch 5712, MPDC (N-Metil-3 piperidil difenilcarbamato) y el butóxido de piperonilo, este último conocido como insecticida (Bowman, 1984).

### **2.3.5 ELIMINACION.**

Los barbitúricos con cadenas laterales cortas y simples, o que llevan un grupo fenilo, es decir, los de acción prolongada, se excretan lentamente por riñón. Es así que el fenobarbital se excreta en un 12% como fármaco libre a partir de una dosis administrada en 24 horas y 25% en 5 días. En orina se puede encontrar el metabolito parahidroxifenilo que tiende a ser conjugado con ácido glucurónico en unas 3 semanas después de la administración del barbitúrico; los de acción intermedia se metabolizan principalmente en el hígado y se excretan en parte por el riñón; los de acción corta y ultracorta, no se excretan a través de riñones o lo hacen muy poco, apenas el 1% para el pentobarbital y un 0.3% para el tiopental.

El pentobarbital se filtra por el glomérulo y por ser muy liposoluble, se puede reabsorber aunque en forma escasa por los túbulos renales. En cambio su metabolito, el hidroxipentobarbital por ser polar se reabsorbe poco y se excreta fácilmente por riñón (Bowman, 1984).

## **2.4. FARMACODINAMIA.**

### **2.4.1. MECANISMO DE ACCION.**

Existen evidencias experimentales de que los barbitúricos potencian los efectos inducidos por el GABA (Acido  $\gamma$ -aminobutírico) lo cual apoya la hipótesis de que el efecto anestésico se explica por la potenciación en la transmisión GABAérgica y también a que disminuye la despolarización inducida por el glutamato, aunque esto no explica completamente el efecto anticonvulsivante de los barbitúricos (Ho, 1981). A nivel de la formación reticular activadora situada en el tallo cerebral del SNC y en concentraciones más altas, los barbitúricos disminuyen la liberación de neurotransmisores dependiente de  $Ca^{++}$  y aumentan la conductancia al cloro ( $Cl^{-}$ ) en ausencia de GABA (llamada acción GABA-mimética). El pentobarbital es mucho más potente que el fenobarbital para producir estos efectos (Ehmero, 1974; Litter, 1986).

## **2.4.2 EFECTOS FARMACOLOGICOS.**

### **2.4.2.1. SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.**

Los barbitúricos deprimen reversiblemente la actividad del SNC y aún cuando se administren en concentraciones anestésicas, los efectos sobre los tejidos excitables periféricos son débiles (Macdonald, 1982).

**SEDACION.** A dosis menores de 100 mg, los barbitúricos atenuan la hiperexcitabilidad nerviosa en casos de ansiedad, tensión, etc., provocando un embotamiento intelectual y reduciendo la actividad motora.

**HIPNOSIS.** Dosis de 100 mg de barbitúricos, provocan un sueño semejante al natural. Producen alargamiento de los períodos 3 (sueño de difícil despertar) y 4 (sueño muy profundo) del sueño, o sea el de movimientos oculares no rápidos (NREM) y disminuyen el número de períodos del sueño paradójal o de movimientos oculares rápidos (REM) (Goodman, 1991).

**ACCION ANTICONVULSIONANTE.** En la epilepsia el fenobarbital tiene una acción selectiva depresora sobre la corteza motora, y a pequeñas dosis, es capaz de prevenir la aparición de los accesos convulsivos denominados "gran mal". Todos los barbitúricos a dosis que producen anestesia general incluyendo al fenobarbital, son capaces de suprimir las convulsiones experimentales en los animales y clínicas en el hombre (tétanos, intoxicación por estricnina, meningitis, estado de mal epiléptico, intoxicación por procaína, cocaína, etc.) (Madrigal, 1989).

**ANESTESIA GENERAL.** A dosis altas, los barbitúricos producen anestesia general, empleándose para este fin los de acción ultracorta como el tiopental sódico por vía intravenosa.

### **2.4.2.2. SISTEMA CARDIOVASCULAR.**

**PRESION ARTERIAL.** En dosis elevadas, los barbitúricos provocan depresión de la actividad cardíaca en animales del laboratorio. En el hombre, las dosis hipnóticas y sedantes no modifican la actividad cardíaca, pero provocan una discreta disminución de la frecuencia y presión arterial. En dosis elevadas pueden provocar una hipotensión importante.

## **2.5 USOS TERAPEUTICOS.**

El uso de los barbitúricos como fármacos hipnótico-sedantes está disminuyendo justificadamente por que los mismos carecen de especificidad en sus efectos sobre el SNC. Su índice terapéutico es más bajo que el de las benzodiazepinas, la tolerancia es más frecuente que con estas últimas, el peligro de abuso es mayor y existe un número considerable de

interacciones entre fármacos. Pueden usarse como hipnóticos, en el tratamiento de estados maníacos agudos, delirio y en algunos trastornos psiconeuróticos (Goth, 1990).

Los barbitúricos tienen todavía usos válidos como sedantes para disminuir la inquietud de algunas enfermedades infantiles como cólicos, tosferina, piloroespasmo, náuseas y vómito de origen funcional, para suprimir la excitación de diversos orígenes anormales y en odontología antes de procedimientos quirúrgicos menores (Michenfelder, 1982; Shapiro, 1982).

Por otra parte el fenobarbital es el medicamento de elección en niños menores de 5 años, incluyendo las crisis del neonato y crisis febriles. Este fármaco se puede utilizar en estados epilépticos, cuando no han dado resultados ni el diazepam ni el clonazepam. Su capacidad terapéutica en la epilepsia del lóbulo temporal es muy escasa y puede administrarse con la fenitoína, aunque ésta es más efectiva que el fenobarbital cuando se padece crisis nocturnas.

## **2.6 EFECTOS COLATERALES.**

Pruebas cuidadosas han demostrado que los trastornos ligeros del humor y del juicio, y de la destreza motora fina, pueden durar varias horas después de terminado el efecto hipnótico de los barbitúricos (Bowman, 1984). El uso crónico de los barbitúricos puede desarrollar una depresión severa en el individuo que los ingiere indiscriminadamente.

El fenobarbital por su parte es un agente con notable inocuidad, y si bien muchos individuos muestran en los comienzos sedación moderada, surge rápidamente tolerancia a este efecto secundario, pero no a la actividad anticonvulsiva.

## **2.7 TOLERANCIA.**

Se desarrolla tolerancia cuando los barbitúricos se consumen repetidamente y resulta necesaria una dosis creciente para producir el mismo efecto depresor; sin embargo, la tolerancia no se extiende en el mismo grado sobre el efecto mortal y por lo tanto, las dosis muy elevadas resultan cada vez más peligrosas. La tolerancia de los barbitúricos resulta de dos mecanismos (Bowman, 1984):

1) Por cambios adaptativos del SNC a la acción depresora, lo cual se conoce como tolerancia farmacodinámica (tolerancia tisular o tolerancia celular).

2) Por estimulación en la formación de enzimas metabolizantes en el REL de las células hepáticas; en consecuencia el fármaco se metaboliza más rápidamente, a esto se le conoce como tolerancia metabólica.



## 8 DEPENDENCIA.

El empleo continuo de barbitúricos (Bowman, 1984), puede causar dependencia física que se manifiesta por la necesidad del consumo del fármaco para impedir la aparición de trastornos somáticos. Al suspender el barbitúrico se presenta el síndrome de abstinencia, cuyos síntomas incluyen náuseas, vómitos, debilidad, hipotensión, ansiedad intensa, temblores, convulsiones, trastornos de la visión y la sensación de no haber dormido bien al aumentar la etapa REM del sueño.

## 9 CONCENTRACIONES TERAPEUTICAS Y TOXICAS.

Los niveles sanguíneos del fenobarbital que se recomiendan para el tratamiento de emergencia de convulsiones como la del tétanos, eclampsia, estado epiléptico, hemorragia cerebral (Litter, 1986) son de 15 a 30  $\mu\text{g/ml}$  en adultos y de 5 a 7  $\mu\text{g/ml}$  en niños; los niveles tóxicos en adultos van de 50 a 100  $\mu\text{g/ml}$ . En adultos los niveles terapéuticos para el pentobarbital son de 0.5 a 3  $\mu\text{g/ml}$  y los niveles tóxicos son de 10 a 50  $\mu\text{g/ml}$ .

## 10 ALGUNAS PRESENTACIONES FARMACEUTICAS Y NOMBRES COMERCIALES.

El fenobarbital y el pentobarbital se encuentran en el mercado como (Goth, 1990):

PRESENTACION	DOSIS USUAL HIPNOTICA	DOSIS LIMITE	DOSIS MAXIMA
TABLETAS DE 15, 100 y 300 mg de fenobarbital (Luminaletas)	100 mg 2 veces/día	15 a 300 mg	600 mg/día
TABLETAS EN COMBINACION (Fenobarbital 50 mg y Fenitoína 60 mg)	100 mg a 300 mg/día en adultos en niños menores de 15 años 60 mg/día	—	—
INYECTABLES SEVENAL 2 ml eq. a 1.33g de Fenobarbital	200 mg Intramuscular 2 veces al día	—	600 mg/día
INYECTABLES LUMINAL SODICO 30, 60, 65 y 130 mg de Fenobarbital sódico.	25 a 60 mg/día por vía parenteral en adultos, en niños de 3 a 6 mg/Kg de peso. Antiepiléptico	—	—
TABLETAS NEMBUTAL SODICO 50 y 100 mg de pentobarbital sódico	100 mg 2 veces/ día	20 a 300 mg 2 veces/día	600 mg/día
INYECTABLES NEMBUTAL 50 mg de Pentobarbital.	300 a 500 mg por vía Intravenosa en adultos. Antiepiléptico.	—	—

## **2.11 LEY DE SUSTANCIAS CONTROLADAS.**

Los barbitúricos se encuentran en el grupo de sustancias controladas que rige la Ley General de Salud (1991); (Manual de Técnicas y procedimientos para identificación de estupefacientes, 1989). El pentobarbital y el fenobarbital son considerados en el Capítulo 4, artículo 245, específicamente en los grupos II y IV respectivamente.

**Grupo II.-** Las que tienen algún valor terapéutico y constituyen un problema grave para la salud pública.

**Grupo IV.-** Las que tienen amplios usos terapéuticos y constituyen un problema menor para la salud pública.

## **CAPITULO 3**

### **DESARROLLO EXPERIMENTAL Y RESULTADOS.**

#### **3.1 ANIMALES DE EXPERIMENTACION, EQUIPO Y MATERIALES.**

##### **3.1.1 ANIMALES DE LABORATORIO.**

- Ratonés albinos machos y hembras de 2 meses de edad con peso de 20 a 30 gramos.

##### **3.1.2 EQUIPO Y MATERIAL.**

- Balanza analítica Mettler AJ-150
- Balanza granataria con canasta
- Potenciómetro Corning 2000
- Vortex Thermolyne Type 16700 Mixer Maxi-Mix 1
- Baño de Ultrasonido Sonicar
- Centrífuga C-300
- Jaulas y cajas porta ratón
- Lámparas para restirador
- Material de vidrio de uso general
- Jeringas para tuberculina
- Algodón para curación
- Marcadores de tinta permanente de diferente color (Esterbrook).

##### **3.1.3 REACTIVOS.**

- Pentobarbital sódico (Anestésal). Smith Kline.
- Fenobarbital sódico (Sevenal). Chinoin.
- Proadifeno (SKF). Smith Kline Beecham Pharmaceuticals.
- Tetracloruro de Carbono. Productos Químicos de Monterrey.
- Alcohol etílico 96° (uso clínico). Productos Químicos de Monterrey.
- Cloruro de sodio. Productos Químicos de Monterrey.
- Agua destilada.

### 3.2. MANEJO E IDENTIFICACION DE LOS ANIMALES.

#### 3.2.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES.

La totalidad del trabajo experimental se llevó al cabo con la utilización de los ratones del Bioterio de la Facultad de Ciencias Químicas y para evitar la obtención de posibles resultados anómalos, los animales fueron apareados en líneas no consanguíneas.

En forma general, los animales fueron alimentados *ad libitum* (sin restricción en la cantidad de alimento), con alimento para roedores 5001 desde su nacimiento hasta su empleo en la parte experimental. Las condiciones de temperatura y humedad del bioterio no presentaron variaciones importantes que pudieran tener efecto significativo sobre los resultados obtenidos.

Para el resguardo y organización de los animales se emplearon cajas comerciales de acero inoxidable y de acrílico.

#### 3.2.2 CODIGO DE IDENTIFICACION.

Para identificar numéricamente a los animales se utilizaron líneas en la cola, las cuales se hicieron con marcadores según el código siguiente:

LINEAS EN LA COLA DEL RATON	NUMERO DE RATON
I	1
II	2
III	3
IIII	4
————	5
———— ■	6
———— ■ ■	7
———— ■ ■ ■	8
———— ■ ■ ■ ■	9
————      ————	10

Cuando se usaron más de 10 animales de experimentación el código de identificación fue como se indica a continuación :

#### **LINEAS EN LA COLA DEL RATON**

#### **NUMERO DE RATON**

██████████ ■ ■ ■	12
██████████ ██████████	15
██████████ ██████████ ██████████	20
██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ■ ■ ■	23
██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████	25
██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ■ ■	32

### **3.3 VIAS Y TECNICAS DE ADMINISTRACION ESTUDIADAS.**

Se estudiaron tres vías principales de administración de fármacos:

Vía intraperitoneal

Vía subcutánea

Vía intramuscular.

#### **3.3.1. TECNICA DE INYECCION INTRAPERITONEAL (I.P.).**

Se toma al ratón por la piel del cuello en su región dorsal con los dedos pulgar, índice y medio. De esta forma se inmovilizan las patas delanteras y la cabeza; al mismo tiempo se toman las patas traseras con los dedos meñique y anular de la misma mano dejando libre la región abdominal. Se jala la piel del abdomen y se introduce la aguja en el cuadrante inferior a la izquierda de la línea media aproximadamente con un ángulo de 45° con respecto a la horizontal. Se succiona el émbolo de la jeringa y si no se aspira aire o sangre, se procede a aplicar la dosis del fármaco.

#### **3.3.2 TECNICA DE INYECCION SUBCUTANEA (S.C.).**

La zona de elección para la punción subcutánea en animales pequeños suele ser a nivel del dorso en la parte superior del cuello por detrás de las orejas. En esta región se toma la piel con los dedos índice y pulgar formando un pliegue debajo del cual se introduce la aguja de la jeringa que

contiene el inóculo. Con los otros dedos de la mano se sujeta la cola del ratón apoyándolo sobre la mesa de trabajo.

### **3.3.3 TECNICA DE INYECCION INTRAMUSCULAR (I.M.).**

El ratón se toma de igual forma que en la técnica de inyección intraperitoneal, sólo que en este caso se jala una de las patas traseras del ratón y se inyecta el fármaco en la región del muslo.

Una vez que se administró la dosis a cada ratón , éste se colocó dentro de su caja correspondiente en la que se procuró que la lámpara para restirador se encontrara encendida cerca de la misma. Esto último se hizo con el fin de que los ratones no presentaran hipotermia, lo cual pudo haber afectado los resultados.

### **3.4 ESTIMACION DE LA DURACION DEL EFECTO FARMACOLOGICO.**

Los efectos que se evaluaron para el empleo de pentobarbital sódico a la dosis empleada de 55 mg/Kg de peso fueron la sedación y la hipnosis. Asimismo se estimó la duración del tiempo de latencia de aparición de estos efectos.

Para los propósitos de este trabajo se tomó en cuenta el siguiente criterio para la medición del efecto farmacológico:

**TIEMPO DE LATENCIA.** Definido como el tiempo que transcurre desde la administración del pentobarbital, hasta cuando el ratón pasa a la etapa de sedación. Observándose inmediatamente después de la administración, inquietud y agitación en los animales.

**TIEMPO DE SEDACION.** Es el tiempo transcurrido desde que el ratón empieza a tener movimientos incoordinados, relajación muscular, apaciguamiento, respiración lenta y termina cuando aparecen los primeros efectos hipnóticos.

**TIEMPO DE HIPNOSIS.** Es el tiempo transcurrido entre el final del periodo de sedación y el momento en que el animal es colocado boca arriba y ya no puede apoyarse en su plano de sustentación, por lo tanto entra en estado de sueño. Termina cuando el ratón instintivamente comienza a apoyarse sobre su plano de sustentación.

#### **3.4.1 PREPARACION DE PENTOBARBITAL SODICO EN SOLUCION.**

Se preparó una solución barbitúrica de 7 mg/ml, diluyendo una solución de pentobarbital sódico cuya concentración era de 0.063 g/ml, con una solución salina isotónica de pH = 7. El pH final de esta solución fue de  $9.0 \pm 0.05$  unidades.

### 3.4.2 ADMINISTRACION DEL FARMACO Y RESULTADOS DE LA APRECIACION DE LA DURACION DEL EFECTO FARMACOLOGICO.

Para esta primera fase del estudio se emplearon únicamente ratones machos a los cuales se les administró el pentobarbital sódico en dosis de 55 mg/Kg de peso por vía I.P. Los datos individuales de los ratones estudiados, así como los valores de la media aritmética y su desviación estándar relativa aparecen en la tabla 3.1.

**TABLA 3.1**

#### ESTIMACION DE LA DURACION DEL EFECTO FARMACOLOGICO DEL PENTOBARBITAL SODICO EN RATONES MACHOS.

No. DE RATON	PESO (g)	DOSIS (ml)	T.L (min)	T.S (min)	T.H (min)
1	20.0	0.157	2	2	23
2	20.9	0.164	2	1	24
3	20.3	0.160	2	2	26
4	23.7	0.186	2	2	20
5	23.9	0.187	2	2	20
6	21.9	0.172	2	1	21
7	23.7	0.186	1	1	17
8	26.2	0.205	2	2	19
9	24.5	0.190	2	2	19
10	24.0	0.188	2	2	19
11	25.4	0.200	2	1	21
12	25.2	0.198	3	2	19
13	24.0	0.188	2	1	15
14	25.0	0.196	2	2	16
15	24.5	0.200	2	1	18
n = 15		$\bar{X}$ D.E	2.0 0.37	1.60 0.50	19.8 2.93

n = No. DE UNIDADES EXPERIMENTALES T.L = TIEMPO DE LATENCIA  
 $\bar{X}$  = MEDIA ARITMETICA T.S = TIEMPO DE SEDACION  
D.E = DESVIACION ESTANDAR T.H = TIEMPO DE HIPNOSIS

### 3.5 INFLUENCIA DE ALGUNOS FACTORES EN LA OBTENCION DEL EFECTO FARMACOLOGICO.

#### 3.5.1 INFLUENCIA DEL pH DE LA SOLUCION DE PENTOBARBITAL SODICO.

Fundamentalmente se estudiaron dos soluciones de pH diferente:

Solución de pentobarbital sódico pH =  $9.0 \pm 0.05$

Solución de pentobarbital sódico pH =  $9.5 \pm 0.05$

Ambas fueron preparadas como se indicó anteriormente en la sección 3.4.1 y conservadas en refrigeración.

Esta etapa del desarrollo experimental *in vivo* fue realizada en ratones machos, en las mismas condiciones descritas anteriormente. Para este fin se formaron dos grupos de 15 y 30 animales para administrarles a uno de ellos, pentobarbital sódico pH de  $9.0 \pm 0.05$  y al otro el pentobarbital sódico a pH de  $9.5 \pm 0.05$ . Se registraron los resultados para el tiempo de latencia, sedación e hipnosis mismos que aparecen en la tabla 3.2.

TABLA 3.2

DURACION DEL EFECTO FARMACOLOGICO DEL PENTOBARBITAL SODICO EN RATONES MACHOS EMPLEANDO SOLUCIONES DE pH = 9.0 Y 9.5.

pH = 9.0

PARAMETRO	DURACION DEL EFECTO (min)		
	T.L	T.S	T.H
$\bar{x}$	1.73	1.6	19.8
D.E	0.45	0.5	3.91
n	15.0	15.0	15.0

pH = 9.5

PARAMETRO	DURACION EL EFECTO (min)		
	T.L	T.S	T.H
$\bar{x}$	1.6	1.56	19.96
D.E	0.5	0.5	2.3
n	30.0	30.0	30.0



### 3.5.2 INFLUENCIA DE LA PRESENCIA DE ALIMENTO Y AYUNO DE LOS ANIMALES.

Asimismo el fármaco fue administrado a ratones a los cuales se les dejó una alimentación *ad libitum* y a ratones que permanecieron en ayuno durante 90 minutos antes de la administración I.P.

En la tabla 3.3 se pueden observar los valores obtenidos en esta fase experimental cuando se administró el pentobarbital a 4 grupos de ratones: 2 grupos de ellos fueron asignados para estudiar el efecto farmacológico con alimentación *ad libitum* cuando el pH de la solución del fármaco era de  $9.0 \pm 0.05$  y  $9.5 \pm 0.05$  respectivamente y los otros dos grupos para ratones en ayuno administrando el barbitúrico a los mismos pH anteriores.

**TABLA 3.3**

**DURACION EL EFECTO FARMACOLOGICO DEL PENTOBARBITAL SODICO EN RATONES MACHOS EN AYUNO Y CON ALMENTACION *ad libitum*, Y A DIFERENTES pH.**

PARAMETRO	pH = 9.0			pH = 9.5			
	T.L	T.S	T.H	T.L	T.S	T.H	
<i>ad libitum</i>	$\bar{x}$	2.0	1.60	19.8	2.16	1.60	16.93
	D.E	0.37	0.50	2.93	0.53	0.49	2.94
	n	15.0	15.0	15.0	30.0	30.0	30.0
AYUNO DE 90 MINUTOS	$\bar{x}$	1.73	1.60	19.80	1.60	1.56	19.96
	D.E	0.45	0.50	3.91	0.49	0.50	2.30
	n	15.0	15.0	15.0	30.0	30.0	30.0

### **3.6 INFLUENCIA DE LA VIA DE ADMINISTRACION EN RATONES DE DIFERENTE SEXO.**

Manteniendo la misma dosis de pentobarbital sódico preparado en una solución de pH  $9.5 \pm 0.05$ , se estudió la duración del efecto farmacológico tanto en ratones hembras como en ratones machos, administrando el fármaco por vía S.C., I.P. e I.M. Como se discutirá en el siguiente capítulo, el hecho de administrar en esta etapa la solución del barbitúrico a pH de  $9.5 \pm 0.05$ , obedece a las conclusiones derivadas del análisis estadístico realizado.

De igual forma, los resultados de cada grupo de ratones han sido ordenados en la tabla 3.4 para su posterior tratamiento estadístico.

**TABLA 3.4**

**DURACION DEL EFECTO FARMACOLOGICO DEL PENTOBARBITAL SODICO ADMINISTRADO POR DIFERENTES VIAS EN RATONES HEMBRAS Y MACHOS.**

**HEMBRAS**

VIA DE ADMINISTRACION	PARAMETRO	DURACION DEL EFECTO (min)		
		T.L	T.S	T.H
INTRAPERITONEAL	$\bar{X}$	2.33	1.33	21.00
	D.E	0.51	0.51	1.26
	n	6.0	6.0	6.0
SUBCUTANEA	$\bar{X}$	7.16	1.50	25.33
	D.E	1.60	0.83	3.72
	n	6.0	6.0	6.0
INTRAMUSCULAR	$\bar{X}$	3.33	2.16	25.33
	D.E	0.81	0.98	1.36
	n	6.0	6.0	6.0

**MACHOS**

VIA DE ADMINISTRACION	PARAMETRO	DURACION DEL EFECTO (min)		
		T.L	T.S	T.H
INTRAPERITONEAL	$\bar{X}$	1.83	1.50	22.33
	D.E	0.75	0.54	3.50
	n	6.0	6.0	6.0
SUBCUTANEA	$\bar{X}$	6.0	3.16	26.33
	D.E	0.89	1.16	4.63
	n	6.0	6.0	6.0
INTRAMUSCULAR	$\bar{X}$	2.66	2.0	26.00
	D.E	0.51	0.63	3.79
	n	6.0	6.0	6.0

TABLA 3.5

3.7 EFECTO DE LA PRESENCIA DE OTROS COMPUESTOS EN LA DURACION DEL EFECTO DEL PENTOBARBITAL SODICO.

3.7.1 AUTOINDUCCION METABOLICA.

HEMBRAS

Algunos fármacos como el pentobarbital pueden provocar inducción de su propio metabolismo a diferentes dosis administradas en forma diaria y consecutiva. Para estudiar este aspecto se aplicó durante seis días consecutivos, una dosis de 55 mg/Kg de peso a ratones tanto hembras (grupo 1) como machos (grupo 2) para observar la variación del efecto farmacológico.

TIEMPO DE HIPNOSIS (min)

En un tercer grupo de ratones machos (grupo 3) fue observada la recuperación de la capacidad metabólica para barbitúricos después de cuatro días de interrumpida la administración diaria del barbitúrico. Los datos de los tres grupos se pueden consultar en la tabla 3.5 así como en la gráfica III.I.

1	17.5	2.2
4	16.6	2.1
5	17.1	2.2
6	16.6	2.9

n = 10

MACHOS

TIEMPO DE HIPNOSIS (min)

	GRUPO 2		GRUPO 3	
	$\bar{Y}$	D.E	$\bar{Y}$	D.E
1	37.9	6.58	34.7	5.33
2	30.0	5.67	31.7	5.40
3	29.0	5.90	30.8	4.56
4	29.1	8.62	27.4	5.21
5	32.4	4.62	29.4	3.01
6	26.6	9.72	-	-
7	-	-	42.9	4.71

n = 10

**TABLA 3.5**

**EFFECTO DE LA AUTOINDUCCION METABOLICA CON PENTOBARBITAL SODICO EN DOSIS DE 55 mg/Kg EN LA DURACION DEL TIEMPO DE HIPNOSIS.**

**HEMBRAS  
GRUPO 1**

<b>DIA</b>	<b>TIEMPO DE HIPNOSIS (min)</b>	
	<b><math>\bar{x}</math></b>	<b>D.E</b>
1	25.9	6.0
2	21.3	3.4
3	17.5	2.2
4	16.6	2.1
5	17.1	3.2
6	16.6	2.9

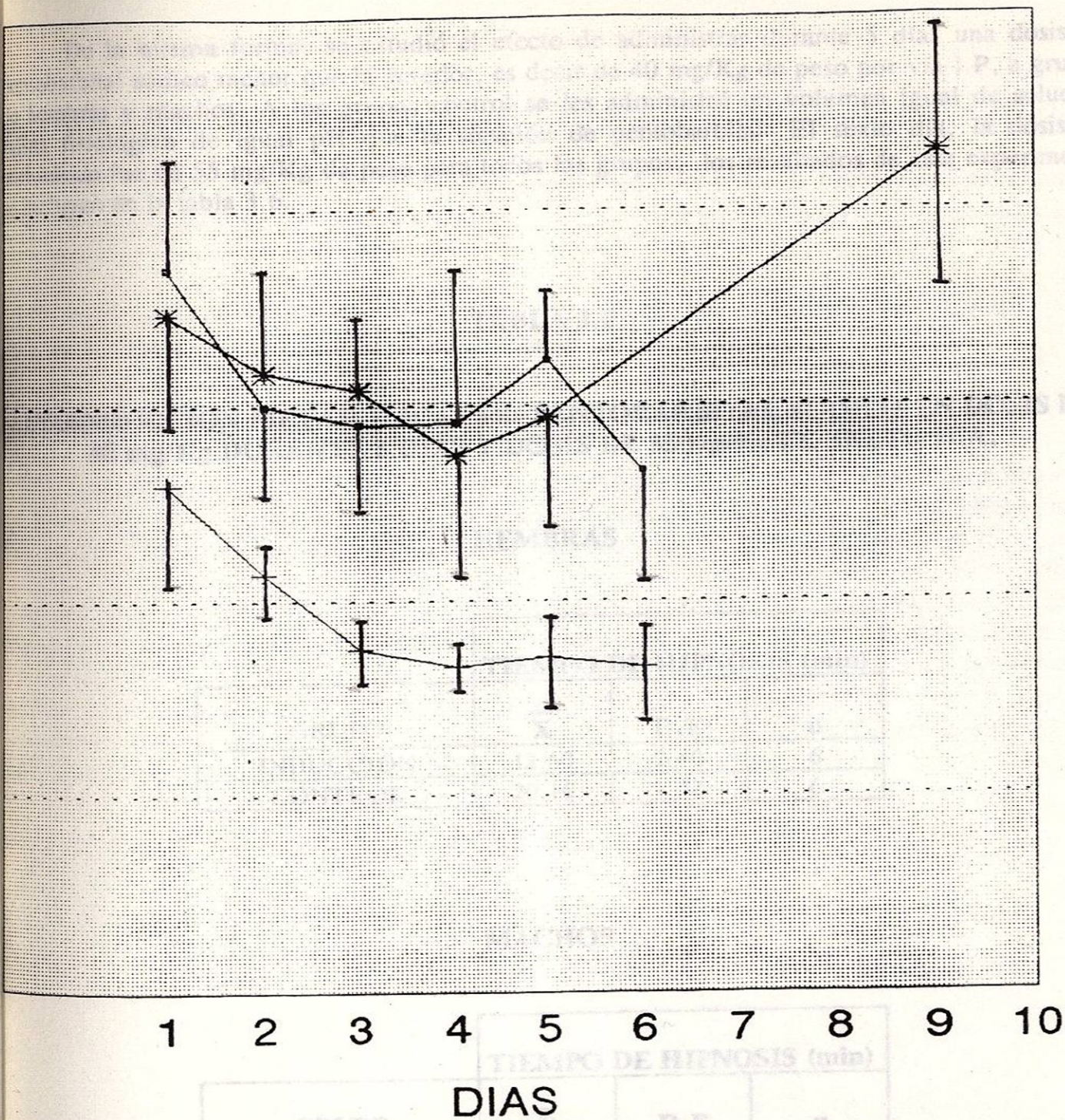
**n = 10**

**MACHOS**

<b>DIA</b>	<b>TIEMPO DE HIPNOSIS (min)</b>			
	<b>GRUPO 2</b>		<b>GRUPO 3</b>	
	<b><math>\bar{x}</math></b>	<b>D.E</b>	<b><math>\bar{x}</math></b>	<b>D.E</b>
1	37.0	6.58	34.7	5.33
2	30.0	5.67	31.7	5.40
3	29.0	5.90	30.8	4.56
4	29.1	8.62	27.4	5.21
5	32.4	4.62	29.4	3.01
6	26.6	9.72	-	-
9	-	-	42.9	4.71

**n = 10**

T.H (min)



—□— MACHOS + HEMBRAS \* MACHOS CON REC. METAB.

FIGURA III.1 EFECTO DE LA AUTOINDUCCION METABOLICA EN LA DURACION DEL TIEMPO DE HIPNOSIS EN DOSIS DE 55 mg/Kg DE PESO EN PENTOBARBITAL.

De la misma forma, se estudió el efecto de administrar durante 5 días una dosis de pentobarbital sódico menor que la anterior, es decir de 40 mg/Kg de peso por vía I.P. a grupos de hembras y machos. A los grupos control se les administró un volumen igual de solución salina fisiológica de igual pH que la solución de pentobarbital. El sexto día, la dosis de barbitúrico fue de 55 mg/Kg de peso para todos los grupos; los resultados de este experimento se incluyen en la tabla 3.6.

**TABLA 3.6**

**AUTOINDUCCION METABOLICA CON PENTOBARBITAL SODICO EN DOSIS DE 40 mg/Kg DURANTE 5 DIAS Y DOSIS DE 55 mg/Kg EL SEXTO DIA.**

**HEMBRAS**

GRUPO	TIEMPO DE HIPNOSIS (min)		
	$\bar{X}$	D.E	n
INDUCCION	12.50	2.40	6
CONTROL	20.16	1.72	6

**MACHOS**

GRUPO	TIEMPO DE HIPNOSIS (min)		
	$\bar{X}$	D.E	n
INDUCCION	14.50	1.04	6
CONTROL	26.66	5.16	6

### **3.7.2 INDUCCION METABOLICA CON FENOBARBITAL SODICO.**

#### **3.7.2.1 PREPARACION DE LA SOLUCION DE FENOBARBITAL SODICO.**

En la preparación de este fármaco se empleó una solución de 0.065 g/ml de la cual se diluyó 1 ml con 8 ml de solución salina de pH = 6.5. La solución final tuvo una concentración de 6.6 mg/ml y un pH de  $8.0 \pm 0.05$ .

Soluciones de fenobarbital sódico de pH 9.0 y menores de 7.3 presentaron precipitación en el primer caso y en el segundo un enturbiamiento de la solución.

#### **3.7.2.2 PROCESO DE INDUCCION.**

Para llevar a cabo la inducción con fenobarbital sódico se aplicó diariamente una dosis de 55 mg/Kg de peso durante tres y cuatro días consecutivos debido a que anteriormente en este laboratorio se observó que el fenobarbital requiere menos tiempo de administración que el pentobarbital para provocar un aumento del metabolismo farmacológico. Con el empleo del fenobarbital a las dosis empleadas sólo se observó una atenuación en la locomoción de los animales. Al cuarto y quinto día respectivamente se administró pentobarbital sódico en dosis de 55 mg/Kg de peso. En esta fase experimental se incluyeron grupos de ratones machos y hembras con sus respectivos controles a los que se les administró solución salina en lugar del fenobarbital sódico. El pentobarbital sódico fue administrado el último día del ensayo. Todos los resultados se pueden observar en la tabla 3.7.



**TABLA 3.7**

**DURACION DE LA HIPNOSIS CON PENTOBARBITAL SODICO DESPUES DE INDUCIR EL METABOLISMO CON FENOBARBITAL SODICO DURANTE 3 Y 4 DIAS EN RATONES DE AMBOS SEXOS.**

**HEMBRAS**

<b>TIEMPO DE HIPNOSIS (min)</b>						
<b>3 DIAS</b>				<b>4 DIAS</b>		
<b>GRUPO</b>	$\bar{X}$	<b>D.E</b>	<b>n</b>	$\bar{X}$	<b>D.E</b>	<b>n</b>
<b>INDUCCION</b>	16.16	2.13	6	11.8	1.92	5
<b>CONTROL</b>	26.83	3.48	6	21.4	1.14	5

**MACHOS**

<b>TIEMPO DE HIPNOSIS (min)</b>						
<b>3 DIAS</b>				<b>4 DIAS</b>		
<b>GRUPO</b>	$\bar{X}$	<b>D.E</b>	<b>n</b>	$\bar{X}$	<b>D.E</b>	<b>n</b>
<b>INDUCCION</b>	13.16	2.13	6	15.8	4.08	5
<b>CONTROL</b>	26.16	1.83	6	26.0	5.52	5

### **3.7.3 INHIBICION DEL METABOLISMO CON SKF.**

#### **3.7.3.1 PREPARACION DEL SKF.**

La preparación del SKF se hizo disolviéndolo en una solución salina isotónica a diferentes pH. Las soluciones obtenidas con solución salina de pH 7.4 y 8.0 provocaron la aparición de un precipitado del compuesto, en tanto que al disolver el SKF con soluciones salinas de pH 6 y 9.5 se obtuvieron soluciones de pH  $6.2 \pm 0.05$  la primera y la última de pH  $9.5 \pm 0.05$ . Esta última solución mostró una apariencia opalescente.

#### **3.7.3.2 PROCESO DE INHIBICION Y RESULTADOS.**

Igual que en los procedimientos anteriores, se trabajó con ratones hembras y machos y grupos controles de ambos; en este caso, los animales control recibieron una inyección i.p. de solución salina previa a la administración del pentobarbital sódico. Los animales de los grupos de inhibición recibieron una dosis de 6 mg/Kg de peso de SKF a pH de  $6.2 \pm 0.05$  o a pH de  $9.5 \pm 0.05$ , treinta minutos antes de la administración de una dosis de 55 mg/Kg de peso de pentobarbital sódico. Para contrastar los resultados de cada grupo experimental se muestran los datos en la tabla 3.8.

**TABLA 3.8**  
**EFFECTO DEL pH DE LA SOLUCION DE SKF SOBRE EL TIEMPO DE HIPNOSIS EN**  
**RATONES HEMBRAS Y MACHOS.**

**HEMBRAS**

TIEMPO DE HIPNOSIS (min)						
pH = 6.2				pH = 9.5		
GRUPO	$\bar{X}$	D.E	n	$\bar{X}$	D.E	n
INHIBICION	59.50	3.33	6	56.16	5.41	6
CONTROL	21.16	2.42	6	21.33	1.86	6

**MACHOS**

TIEMPO DE HIPNOSIS (min)						
pH = 6.2				pH = 9.5		
GRUPO	$\bar{X}$	D.E	n	$\bar{X}$	D.E	n
INHIBICION	76.33	6.37	6	72.8	5.07	6
CONTROL	30.0	2.19	6	35.0	3.89	6

**3.7.4 INHIBICION DEL METABOLISMO CON CCl<sub>4</sub>.**

**3.7.4.1 PROCESO DE INHIBICION Y RESULTADOS.**

En este caso, animales de diferente sexo fueron colocados en una atmósfera de CCl<sub>4</sub> durante 20 a 40 segundos. Para esta finalidad se colocó una torunda de algodón impregnada de CCl<sub>4</sub> en un frasco de vidrio grande de boca ancha. En el frasco se colocó cada animal hasta el momento en que éste mostró incoordinación de movimientos. El procedimiento se repitió durante 4 a 5 días consecutivos y al quinto o sexto día respectivamente se administró pentobarbital sódico en dosis de 55 mg/Kg de peso para medir la duración del efecto farmacológico y compararlo con los grupos control. La tabla 3.9 contiene los resultados de esta etapa del estudio.

TABLA 3.9

EFFECTO DEL CCl<sub>4</sub> EN LA DURACION DEL TIEMPO DE HIPNOSIS DURANTE 4 Y 5 DIAS EN RATONES HEMBRAS Y MACHOS.

HEMBRAS

GRUPO	TIEMPO DE HIPNOSIS (min)					
	4 DIAS			5 DIAS		
	$\bar{X}$	D.E	n	$\bar{X}$	D.E	n
INHIBICION	44.16	3.18	6	52.66	5.88	6
CONTROL	19.66	1.03	6	25.41	3.04	6

MACHOS

GRUPO	TIEMPO DE HIPNOSIS (min)					
	4 DIAS			5 DIAS		
	$\bar{X}$	D.E	n	$\bar{X}$	D.E	n
INHIBICION	48.33	3.01	6	68.0	13.0	6
CONTROL	29.00	2.09	6	27.0	2.0	6

### **3.8 ENSAYOS PARA ESTUDIAR LA RELACION DOSIS-RESPUESTA CUANTAL.**

#### **3.8.1 PROCEDIMIENTO ALEATORIO EN LA ASIGNACION DE DOSIS.**

##### **3.8.1.1 PREPARACION DEL PENTOBARBITAL SODICO.**

El fármaco fue preparado con solución salina obteniendo un pH de  $9.5 \pm 0.05$  y trabajando con concentraciones de 7 y 15.75 mg/ml.

##### **3.8.1.2 ESQUEMA DE ADMINISTRACION Y RESULTADOS.**

Se formaron grupos de ratones de los dos sexos a los que se les administró el pentobarbital sódico en una sola dosis. La asignación de dosis a los ratones fue realizada en forma aleatoria para cuyo propósito se empleó la tabla de números aleatorios. El intervalo de dosis empleado fue de 30 a 55 mg/Kg de peso para evaluar el efecto farmacológico, y de 100 a 165 mg/Kg de peso para estimar el efecto letal. La respuesta "todo o nada" obtenida se registró para cada unidad experimental basándose en el efecto hipnótico y letal únicamente. Se calcularon las Unidades Probit (U.P) que es un parámetro relacionado con la probabilidad de que se presente la respuesta "todo o nada". Estos resultados se muestran en la tabla 3.10 y 3.11 y en el las gráficas III.2 a III.5. Con los datos obtenidos se estimaron los valores de los siguientes parámetros:

- DE50 : Dosis a la cual el 50 % de una población presenta el efecto estudiado.
- DL50 : Dosis a la cual el 50 % de una población muere.
- DE50s : Dosis a la cual el 50 % de una población presenta sedación.
- DE50H: Dosis a la cual el 50 % de una población presenta hipnosis.
- I.Ts-M : Índice terapéutico sedación-muerte. Es la relación que existe entre la DL50 y la DE50s.
- I.TH-M : Índice terapéutico hipnosis-muerte. Es la relación que existe entre la DL50 y la DE50H.
- F.SH-M: Factor de seguridad hipnosis-muerte. Es la relación que existe entre la DL1 y la DE99H.
- DL1 : Dosis a la cual el 1 % de una población muere.
- DE99H: Dosis a la cual el 99 % de la población presenta hipnosis.

**TABLA 3.10**

**RESPUESTA TODO O NADA PARA EL PENTOBARBITAL SODICO EN RATONES HEMBRAS (ASIGNACION ALEATORIA).**

**EFECTO FARMACOLOGICO**

<b>DOSIS mg/Kg</b>	<b>log DOSIS</b>	<b>No: DE ANIMALES CON EFECTO / No DE ANIMALES ESTUDIADOS</b>	<b>% DE ANIMALES CON EFECTO</b>	<b>UNIDADES PROBIT (U.P)</b>
30	1.47	1/8	12.5	3.82
35	1.54	4/8	50.0	5.00
39	1.59	5/8	62.5	5.30
45	1.65	6/8	75.0	5.67
50	1.69	7/8	87.5	6.12
55	1.74	8/8	96.8	6.85

**EFECTO LETAL**

<b>DOSIS mg/Kg</b>	<b>log DOSIS</b>	<b>No. DE ANIMALES CON EFECTO/No DE ANIMALES ESTUDIADOS</b>	<b>% DE ANIMALES CON EFECTO</b>	<b>UNIDADES PROBIT (U.P)</b>
100	2.00	0/9	3.1	3.11
110	2.04	1/9	11.1	3.77
120	2.07	2/9	22.2	4.22
130	2.11	3/9	33.3	4.56
150	2.17	8/9	88.8	6.17
165	2.21	9/9	96.8	6.85

**TABLA 3.11**

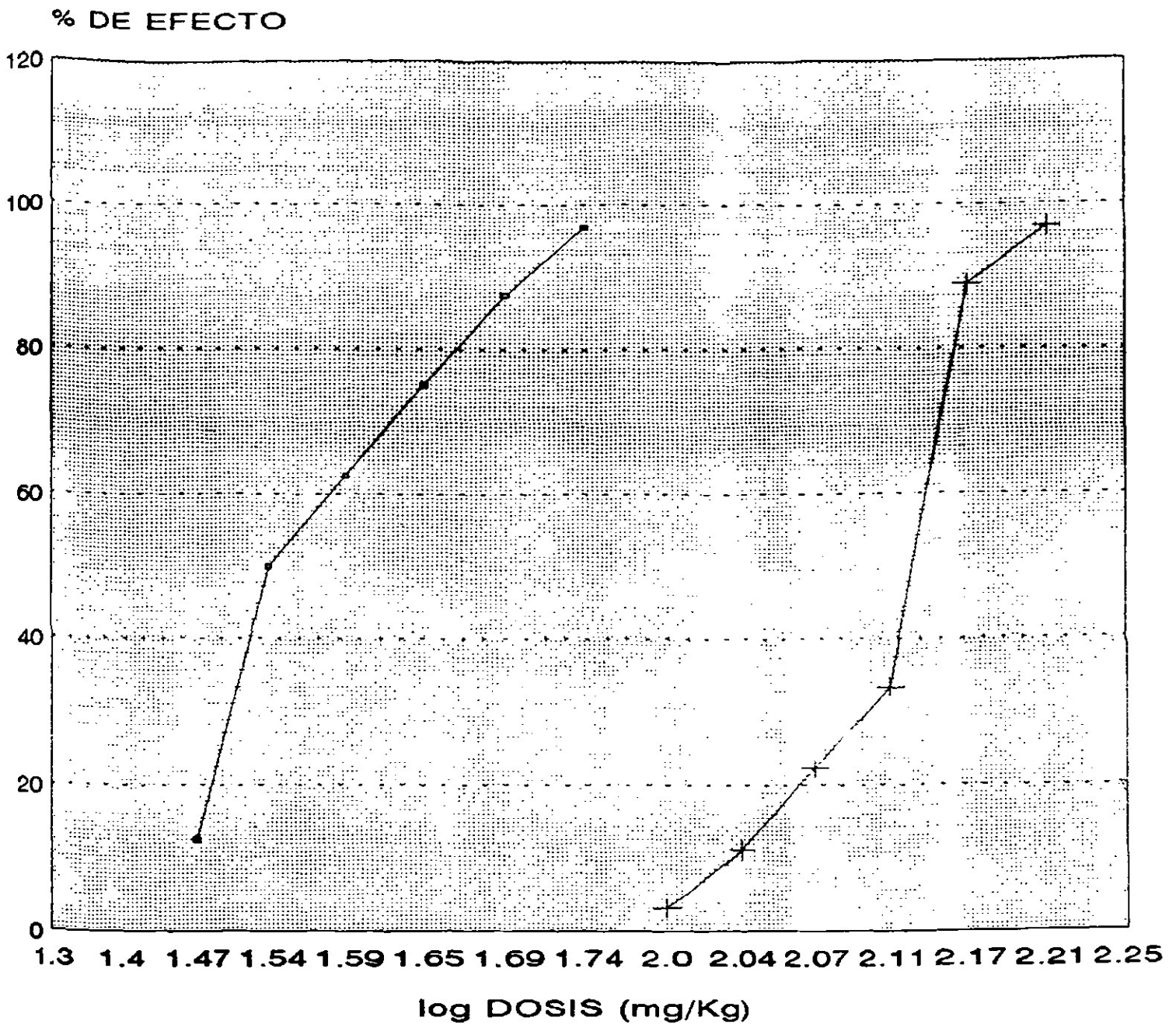
**RESPUESTA TODO O NADA PARA EL PENTOBARBITAL SODICO EN RATONES MACHOS (ASIGNACION ALEATORIA).**

**EFECTO FARMACOLOGICO**

<b>DOSIS mg/Kg</b>	<b>log DOSIS</b>	<b>No. DE ANIMALES CON EFECTO/No. DE ANIMALES ESTUDIADOS</b>	<b>% DE ANIMALES CON EFECTO</b>	<b>UNIDADES PROBITS (U.P)</b>
30	1.47	2/8	25.0	4.32
35	1.54	4/8	50.0	5.00
39	1.59	5/8	62.5	5.36
45	1.65	6/8	75.0	5.67
50	1.69	8/8	96.8	6.85
55	1.74	8/8	96.8	6.85

**EFECTO LETAL**

<b>DOSIS mg/Kg</b>	<b>log DOSIS</b>	<b>No. DE ANIMALES CON EFECTO/No. DE ANIMALES ESTUDIADOS</b>	<b>% DE ANIMALES CON EFECTO</b>	<b>UNIDADES PROBITS (U.P)</b>
100	2.00	1/8	12.5	3.82
110	2.04	2/8	25.0	4.32
120	2.07	3/8	37.5	4.66
130	2.11	4/8	50.0	5.00
145	2.16	6/8	75.0	5.67
160	2.20	6/6	96.8	6.85

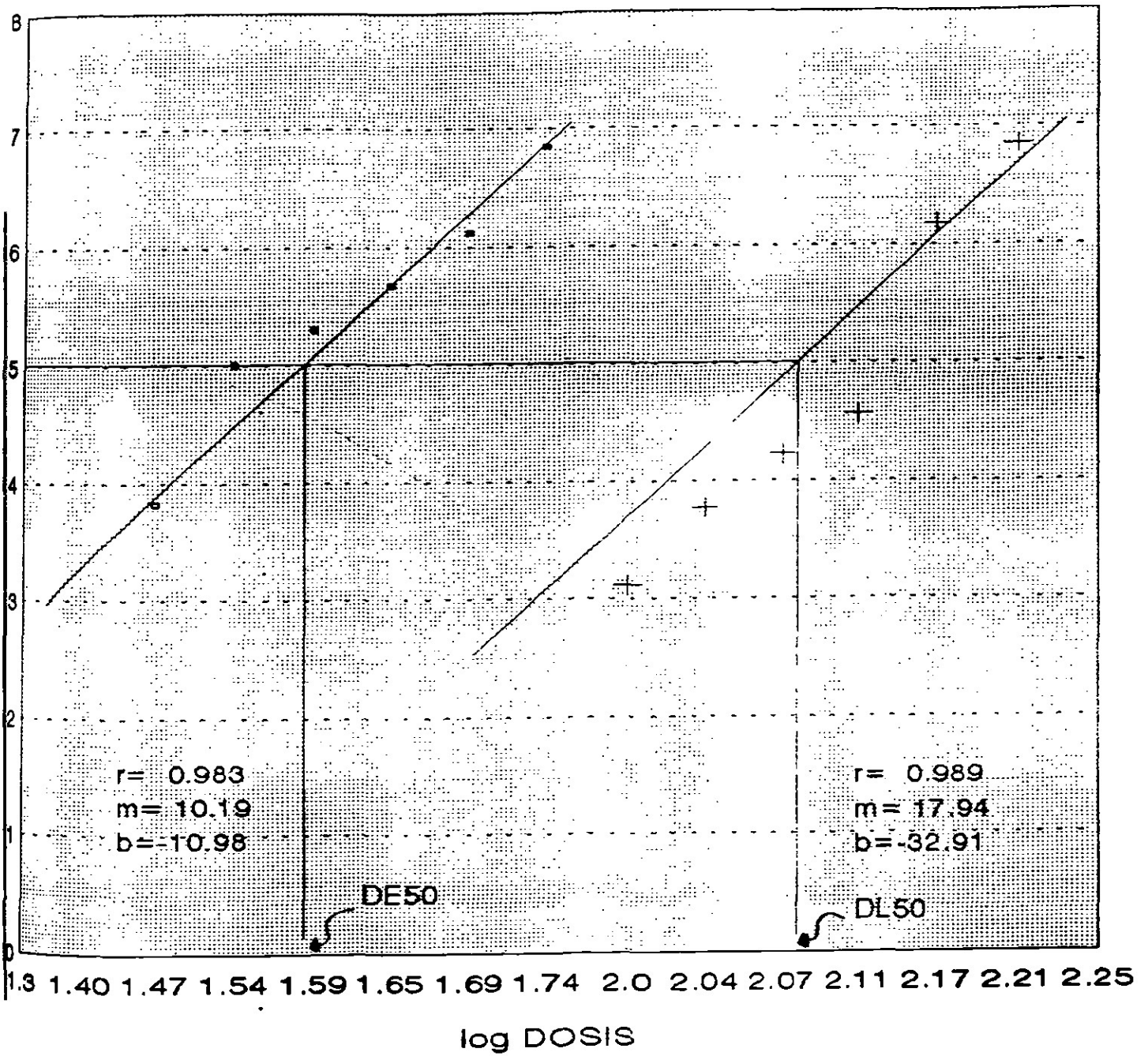


—●— HIPNOSIS + MUERTE

GRAFICA III.2 CURVA DOSIS-EFECTO PARA EL PENTOBARBITAL SODICO ADMINISTRADO POR VIA I.P. A RATONES HEMBRAS.



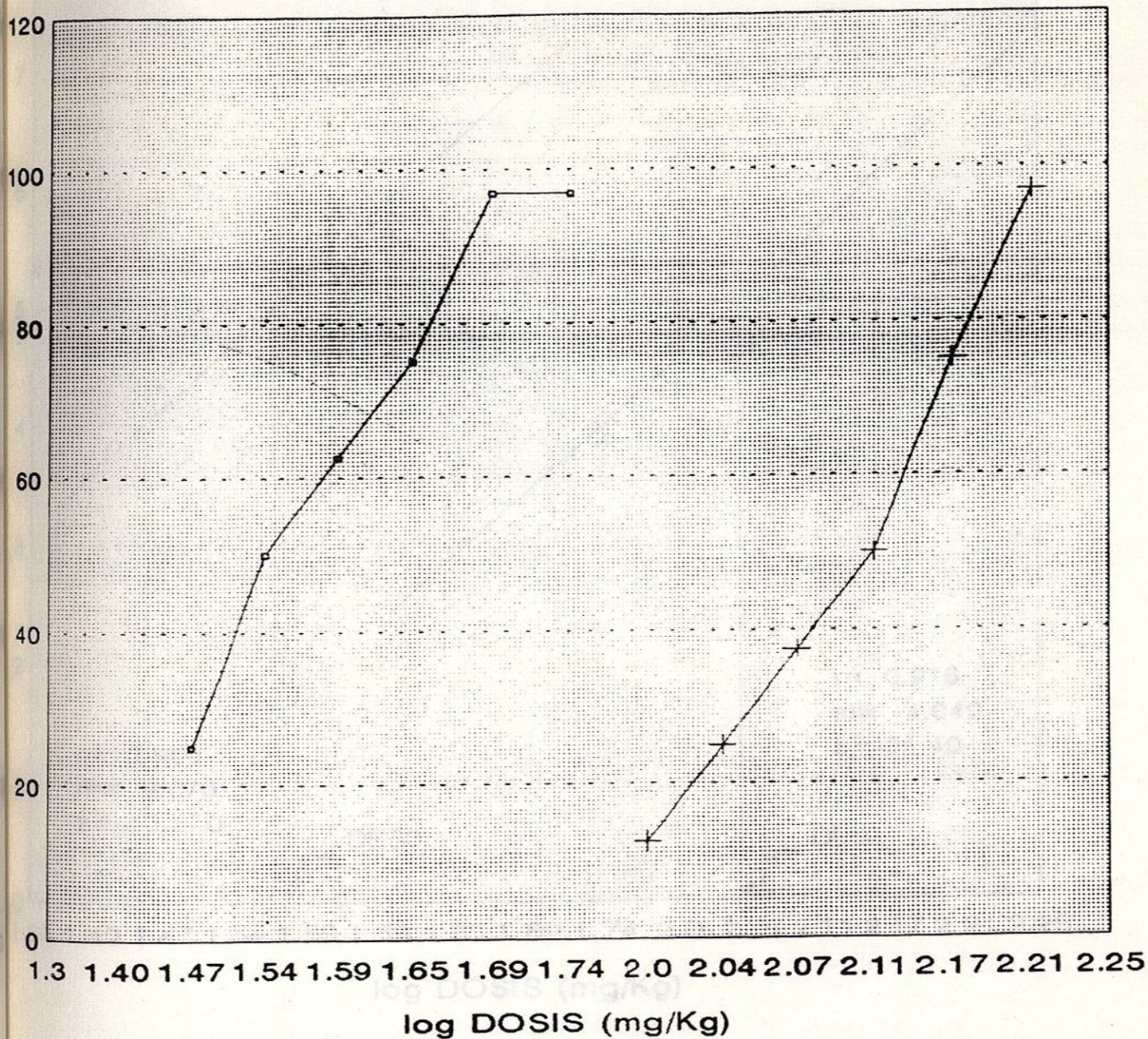
U.P



• HIPNOSIS + MUERTE

GRAFICA III.3 DETERMINACION DE DE50 Y DL50 PARA EL PENTOBARBITAL EN RATONES HEMBRAS.

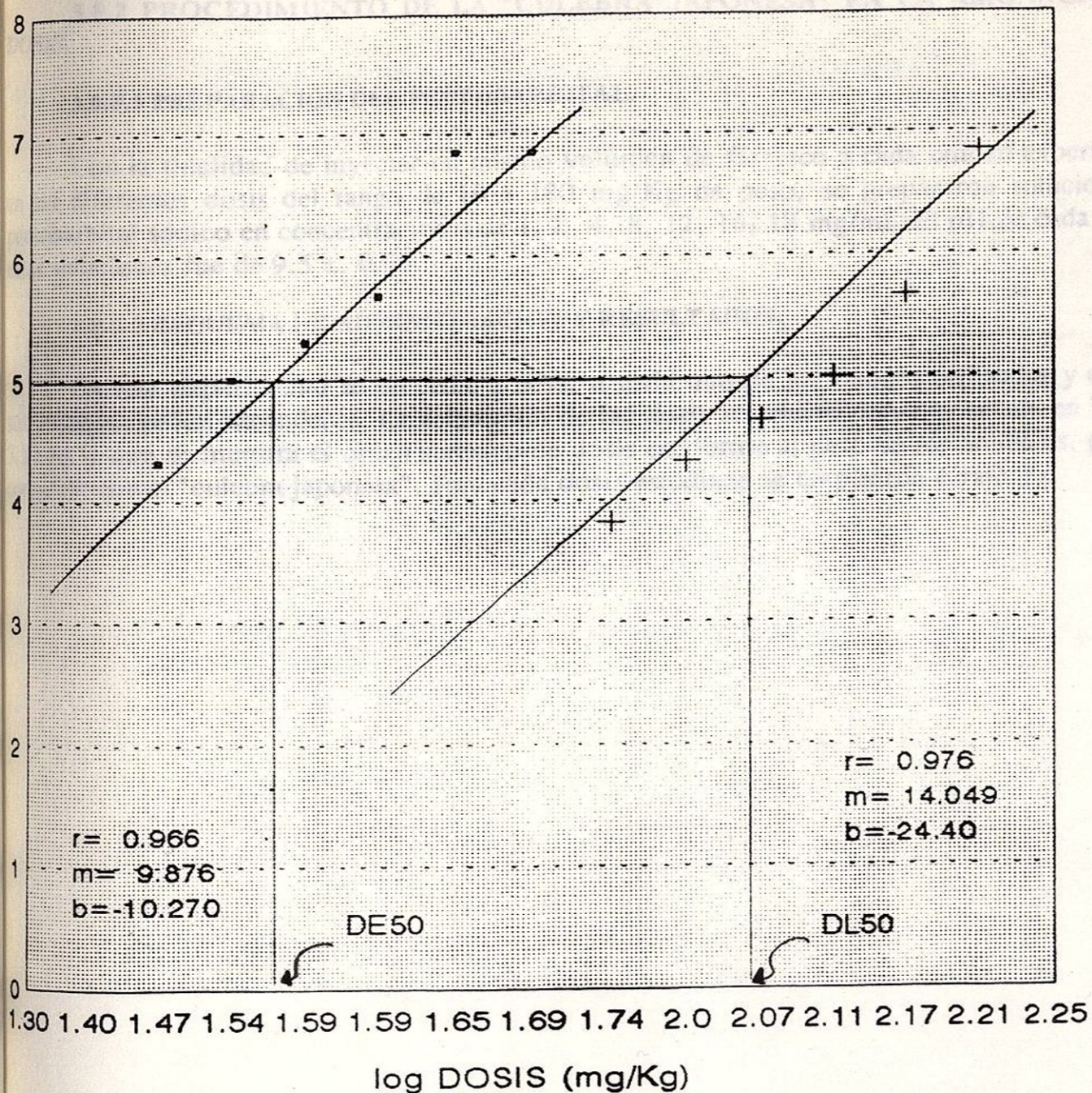
% DE EFECTO



● HIPNOSIS + MUERTE

GRAFICA III.4 CURVA DOSIS-EFECTO PARA EL PENTOBARBITAL SODICO ADMINISTRADO POR VIA P. A RATONES MACHOS.

U.P



• HIPNOSIS + MUERTE

GRAFICA III.5 DETERMINACION DE DE50 Y DL50 PARA EL PENTOBARBITAL SODICO EN RATONES MACHOS.

### **3.8.2 PROCEDIMIENTO DE LA "CULEBRA JAPONESA" EN LA ASIGNACION DE DOSIS.**

#### **3.8.2.1 PREPARACION DEL PENTOBARBITAL.**

Con la finalidad de inyectar un mismo volúmen de fármaco a cada unidad experimental en las diferentes dosis del rango de 10 a 180 mg/Kg de peso, se prepararon soluciones de pentobarbital sódico en concentraciones de 1, 2, 4, 8, 12, 16, 18 mg/ml. El pH de cada una de estas soluciones fue de  $9.5 \pm 0.05$

#### **3.8.2.2 ESQUEMA DE ADMINISTRACION Y RESULTADOS.**

En este experimento se procedió a pesar a cada uno de los ratones utilizados y ordenar sus pesos en orden ascendente. La asignación de las dosis se realizó como se señala en la tabla 3.12 en la que se muestra el orden sucesivo de dosis conforme al peso de los animales, proceso conocido como "culebra japonesa". Para cada dosis estudiada se emplearon 6 ratones.

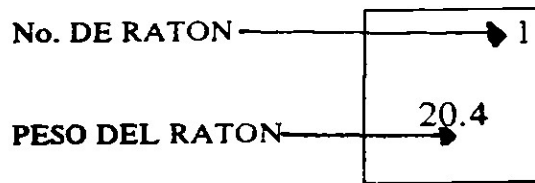
TABLA 3.12

"CULEBRA JAPONESA" PARA LA ASIGNACION DE DOSIS.

DOSIS (mg/Kg) DE PESO

Número de Ratón  
y  
Peso (g)

10	20	40	80	120	160	180
20.4 <sup>1</sup>	21.9 <sup>2</sup>	22.8 <sup>3</sup>	23.0 <sup>4</sup>	23.5 <sup>5</sup>	24.4 <sup>6</sup>	24.5 <sup>7</sup>
25.1 <sup>14</sup>	24.9 <sup>13</sup>	24.8 <sup>12</sup>	24.7 <sup>11</sup>	24.7 <sup>10</sup>	24.7 <sup>9</sup>	24.6 <sup>8</sup>
25.1 <sup>15</sup>	25.1 <sup>16</sup>	25.2 <sup>17</sup>	25.4 <sup>18</sup>	25.4 <sup>19</sup>	25.4 <sup>20</sup>	25.4 <sup>21</sup>
26.1 <sup>28</sup>	26.1 <sup>27</sup>	26.0 <sup>26</sup>	25.8 <sup>25</sup>	25.8 <sup>24</sup>	25.8 <sup>23</sup>	25.7 <sup>22</sup>
26.1 <sup>29</sup>	26.2 <sup>30</sup>	26.3 <sup>31</sup>	26.3 <sup>32</sup>	26.6 <sup>33</sup>	27.1 <sup>34</sup>	27.1 <sup>35</sup>
28.8 <sup>42</sup>	28.2 <sup>41</sup>	28.2 <sup>40</sup>	28.1 <sup>39</sup>	27.9 <sup>38</sup>	27.5 <sup>37</sup>	27.2 <sup>36</sup>



Igual que en el procedimiento anterior, el barbitúrico fue administrado por vía I.P. a hembras y machos. En este caso el efecto "todo o nada" fue registrado para la obtención de la sedación, hipnosis y muerte dentro de treinta minutos después de la inyección del fármaco. Los efectos presentados después de este tiempo no fueron tomados en cuenta. En las tablas 3.13 y 3.14 se muestra estos resultados.

**TABLA 3.13**

**RESPUESTA TODO O NADA PARA EL PENTOBARBITAL SODICO EN RATONES HEMBRAS (ASIGNACION CULEBRA JAPONESA)**

**SEDACION**

<b>DOSIS (mg/Kg)</b>	<b>log DOSIS</b>	<b>No. DE ANIMALES CON EFECTO/No. DE ANIMALES ESTUDIADOS</b>	<b>% DE ANIMALES CON EFECTO</b>	<b>UNIDADES PROBITS (U.P)</b>
10	1.0	3/6	50.00	5.03
20	1.3	5/6	83.33	5.95
40	1.6	6/6	96.87	6.85

**HIPNOSIS**

<b>DOSIS (mg/Kg)</b>	<b>log DOSIS</b>	<b>No. DE ANIMALES CON EFECTO/No. DE ANIMALES ESTUDIADOS</b>	<b>% DE ANIMALES CON EFECTO</b>	<b>UNIDADES PROBITS (U.P)</b>
40	1.60	5/6	83.33	5.95
80	1.90	6/6	96.87	6.85
120	2.08	6/6	96.87	6.85

**MUERTE**

<b>DOSIS (mg/Kg)</b>	<b>log DOSIS</b>	<b>No. DE ANIMALES CON EFECTO/No. DE ANIMALES ESTUDIADOS</b>	<b>% DE ANIMALES CON EFECTO</b>	<b>UNIDADES PROBITS (U.P)</b>
120	2.08	4/6	66.66	5.41
160	2.20	5/6	83.33	5.95
180	2.25	5/6	83.33	5.95

**TABLA 3.14**

**RESPUESTA TODO O NADA PARA EL PENTOBARBITAL SODICO EN RATONES MACHOS (ASIGNACION CULEBRA JAPONESA).**

**SEDACION**

<b>DOSIS (mg/Kg)</b>	<b>log DOSIS</b>	<b>No. DE ANIMALES CON EFECTO/No. DE ANIMALES ESTUDIADOS</b>	<b>% DE ANIMALES CON EFECTO</b>	<b>UNIDADES PROBITS (U.P)</b>
10	1.00	2/6	33.33	4.56
20	1.30	4/6	66.66	5.41
40	1.60	6/6	96.87	6.85

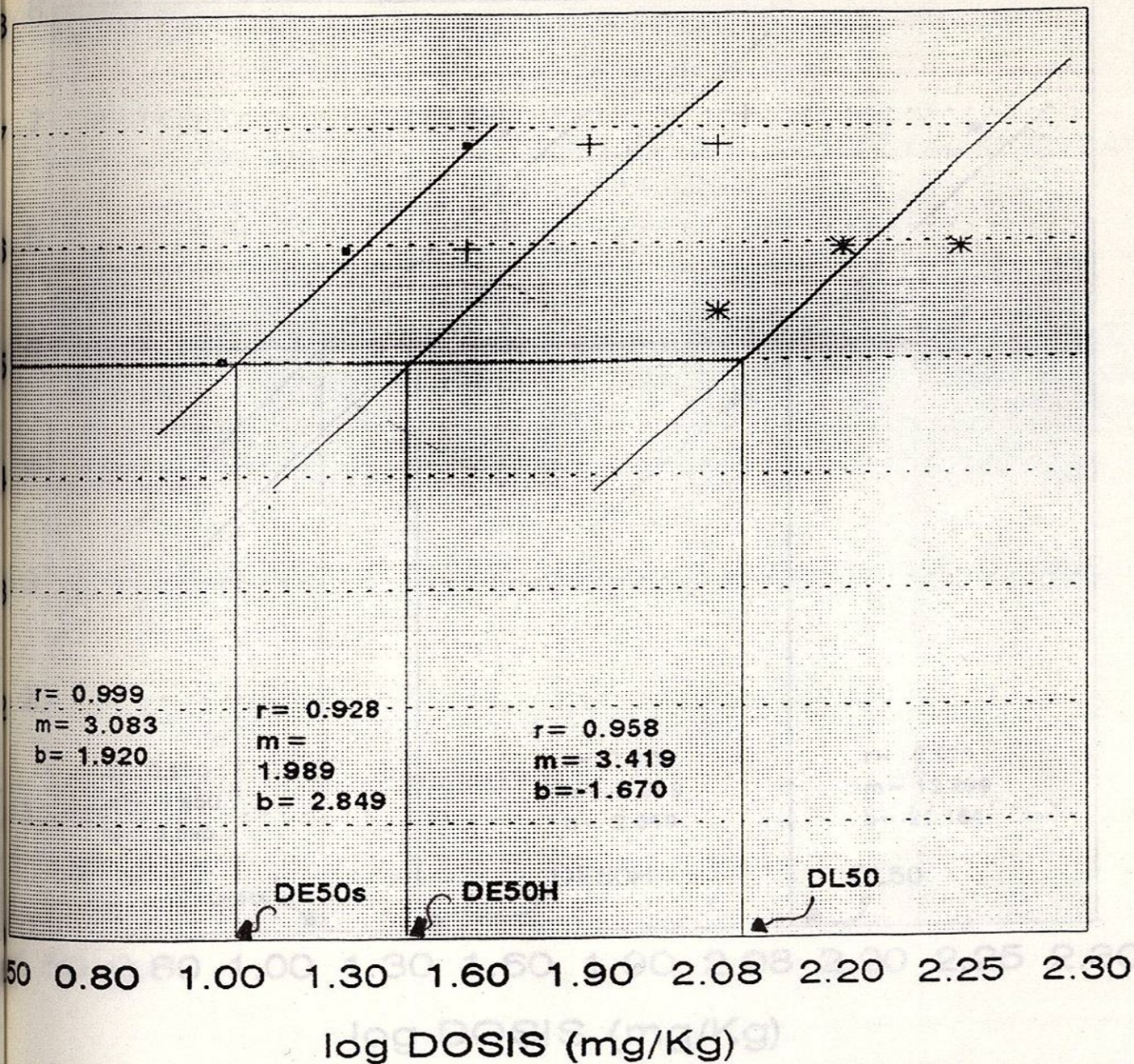
**HIPNOSIS**

<b>DOSIS (mg/Kg)</b>	<b>log DOSIS</b>	<b>No. DE ANIMALES CON EFECTO/No. DE ANIMALES ESTUDIADOS</b>	<b>% DE ANIMALES CON EFECTO</b>	<b>UNIDADES PROBITS (U.P)</b>
40	1.60	5/6	83.33	5.95
80	1.90	6/6	96.87	6.85
120	2.08	6/6	96.87	6.85

**MUERTE**

<b>DOSIS (mg/Kg)</b>	<b>log DOSIS</b>	<b>No. DE ANIMALES CON EFECTO/No. DE ANIMALES ESTUDIADOS</b>	<b>% DE ANIMALES CON EFECTO</b>	<b>UNIDADES PROBITS (U.P)</b>
120	2.08	2/6	66.66	5.41
160	2.20	4/6	83.33	5.95
180	2.25	6/6	83.33	5.95

Las gráficas III.6 y III.7 representan los datos de estas tablas cuando se trabajan Unidades Probits.

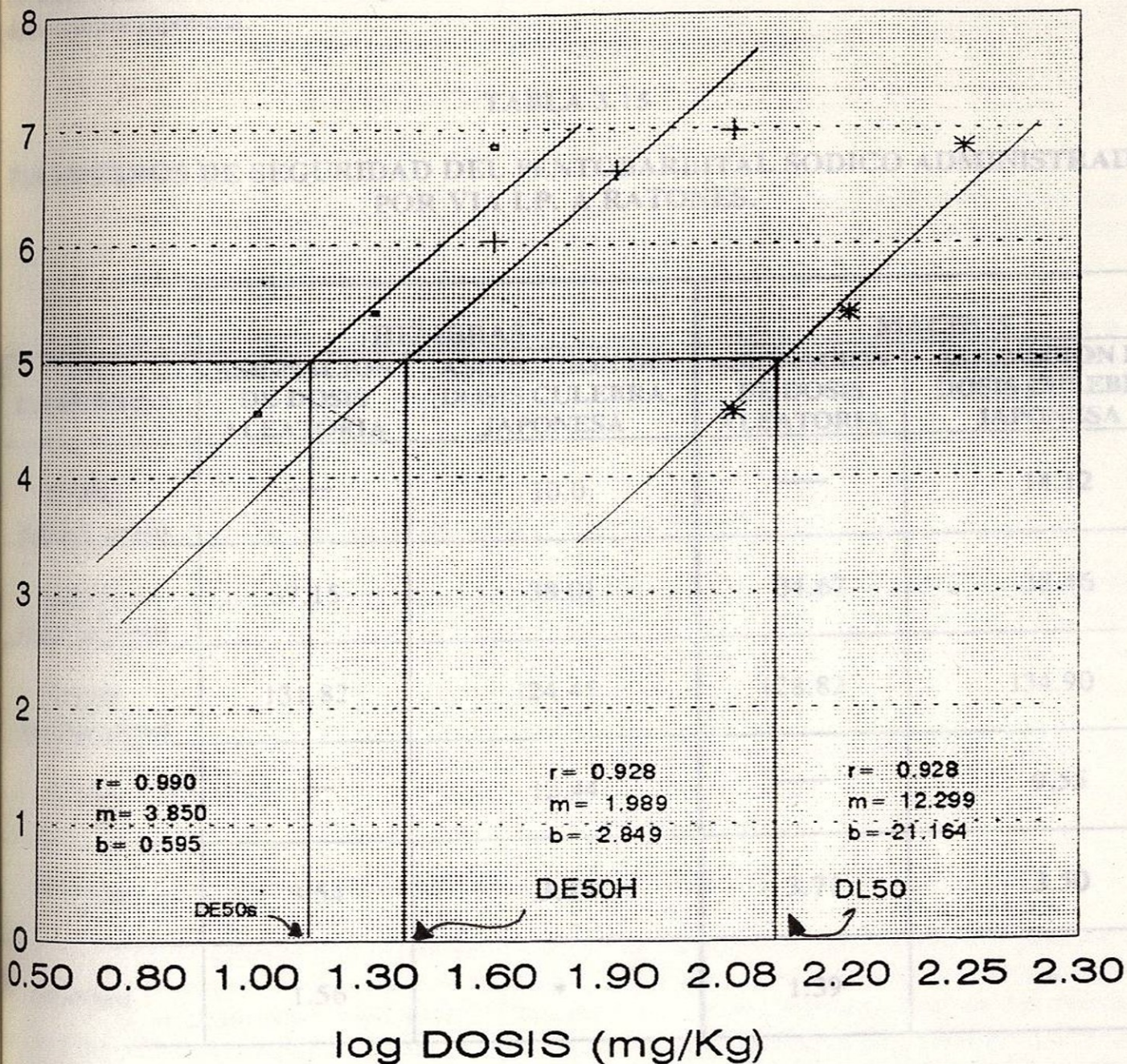


◻ SEDACION + HIPNOSIS \* MUERTE

GRAFICA III.6 EVALUACION DE LA SEGURIDAD DEL PENTOBARBITAL EN RATONES HEMBRAS EN ASIGNACION DE DOSIS "CULEBRA JAPONESA".



U.P



DE50s : DOSIS EFECTIVA CINCUENTA PARA SEDACION  
 DE50H : DOSIS EFECTIVA CINCUENTA PARA HIPNOSIS  
 DL50 : DOSIS LETAL CINCUENTA  
 I.TSM : INDICE TERAPEUTICO SEDACION-MUERTE  
 I.TSMH : INDICE TERAPEUTICO HIPNOSIS-MUERTE  
 P.M.M. : PARAMETRO CUYO VALOR ES CALCULADO CON IMPRECISION

■ SEDACION + HIPNOSIS \* MUERTE

GRAFICA III.7 EVALUACION DE LA SEGURIDAD DEL PENTOBARBITAL EN RATONES MACHOS EN ASIGNACION DE DOSIS "CULEBRA JAPONESA".

En la tabla 3.15 se comparan los parámetros de seguridad del pentobarbital sódico calculados por el método de asignación de dosis aleatoria y por el método de asignación de dosis culebra japonesa.

**TABLA 3.15**

**PARAMETROS DE SEGURIDAD DEL PENTOBARBITAL SODICO ADMINISTRADO POR VIA I.P. A RATONES.**

PARAMETRO	HEMBRAS		MACHOS	
	ASIGNACION DE DOSIS ALEATORIA	ASIGNACION DE DOSIS CULEBRA JAPONESA	ASIGNACION DE DOSIS ALEATORIA	ASIGNACION DE DOSIS CULEBRA JAPONESA
DE50s (mg/Kg peso)	—	10.0	—	14.12
DE50H (mg/Kg peso)	37.15	38.01	34.67	38.46
DL50 (mg/Kg peso)	131.82	124.45	128.82	134.90
I.Ts-M	—	12.44	—	9.55
I.Th-M	3.54	3.27	3.71	3.50
F.Sh-M	1.56	*	1.39	*

**DE50s :** DOSIS EFECTIVA CINCUENTA PARA SEDACION

**DE50H :** DOSIS EFECTIVA CINCUENTA PARA HIPNOSIS

**DL50 :** DOSIS LETAL CINCUENTA

**I.Ts-M :** INDICE TERAPEUTICO SEDACION-MUERTE

**I.Th-M :** INDICE TERAPEUTICO HIPNOSIS-MUERTE

**F.Sh-M :** FACTOR DE SEGURIDAD HIPNOSIS-MUERTE

**— :** DATO NO DISPONIBLE

**\* :** PARAMETRO CUYO VALOR ES CALCULADO CON IMPRECISION.

## CAPITULO 4

### DISCUSION DE RESULTADOS.

#### 4.1 MANEJO E IDENTIFICACION DE LOS ANIMALES.

Los animales empleados en este estudio fueron mantenidos en condiciones tales que no tuvieron influencia apreciable sobre los parámetros estudiados; asimismo no se presentó ningún efecto diferente a los observados para cada sustancia administrada.

En todo momento la manipulación de cada unidad experimental estuvo acorde a los señalamientos éticos de respeto a los animales (Loelu, 1984; Rowan, 1985), de forma que siempre se procuró producir el mínimo daño posible y emplear la mínima cantidad de ratones en cada etapa de trabajo.

#### 4.2 VIAS Y TECNICAS DE ADMINISTRACION ESTUDIADAS.

Se seleccionaron 3 vías de administración parenteral de barbitúricos de interés farmacológico en el laboratorio. La vía oral no fue estudiada debido a la excesiva manipulación que implicaba el procedimiento de introducir un catéter a un animal tan pequeño como lo es el ratón.

Ninguna de las vías de administración empleadas mostraron dificultad alguna en el momento de su ejecución.

#### 4.3 ESTIMACION DE LA DURACION DEL EFECTO FARMACOLOGICO.

La relación gradual que existe entre la dosis de un fármaco, en este caso el pentobarbital sódico, y el efecto que produce, puede ser estudiada a través de la duración del efecto hipnótico que presenta el organismo bajo estudio, teniendo en cuenta además, que en las relaciones cuantales el efecto producido se relaciona con la variabilidad biológica del individuo (Esplugues, 1982; Goodman, 1991). Una dosis de 55 mg/Kg de peso administrado por vía i.p. a ratones machos fue la seleccionada para estimar dos diferentes acciones depresoras del pentobarbital evaluadas en función de la duración de su efecto: la sedación y la hipnosis. Esta dosis, como se demuestra en la tabla 3.11 (Pág. 32) resultó ser efectiva para que la totalidad de ratones presentaran efecto hipnótico.

El criterio para la medición del tiempo de latencia, de sedación y de hipnosis, indicado en la sección 3.4 (Pág. 22), presentó ciertas limitaciones pues en la estimación de cada etapa de depresión del SNC se presentan subniveles de respuesta que tras la simple observación del animal

no es factible evaluarlos. Irwin (1964) propone un procedimiento general de medición del efecto, que para los objetivos del presente trabajo no pudo aplicarse debido a que representaba problemas de excesiva manipulación de los animales.

Por otro lado, todos los ratones que se incluyeron en el estudio estuvieron dentro del rango de edad de 1½ - 2 meses y de 20 a 30 gramos de peso.

Desde el momento de la administración I.P. hasta que el fármaco llega a la circulación sanguínea y de ahí al cerebro para que ejerza su acción sedante, se registró un tiempo de  $2 \pm 0.37$  minutos que se relaciona con el tiempo de latencia de aparición del efecto ver tabla 3.1 (Pág. 19). Este dato indica la rapidez de absorción del fármaco en el peritoneo, un tejido ricamente vascularizado, y la gran permeabilidad de la barrera hematoencefálica a la forma no ionizada del pentobarbital.

La duración del efecto principal, es decir del efecto hipnótico, con la dosis administrada que tuvo un valor de  $19.8 \pm 2.93$  minutos, incluye procesos farmacodinámicos y farmacocinéticos que determinan el nivel de concentración del pentobarbital en la biofase.

#### **4.4 INFLUENCIA DE ALGUNOS FACTORES EN LA OBTENCION DEL EFECTO FARMACOLOGICO.**

Todos los resultados que fueron presentados en el Capítulo 3 referentes a evaluar algunos factores sobre la duración del efecto farmacológico, fueron analizados estadísticamente con el estadígrafo "t" de Student a un nivel de significancia de 0.05 ( $p = 0.05$ ). El contraste de hipótesis y el cálculo del estadígrafo para su posterior análisis, se realizó según Wayne (1983) para comparación de medias de poblaciones diferentes en las que se usaron los valores de las medias aritméticas, desviaciones estándar y número de unidades experimentales.

##### **4.4.1 INFLUENCIA DEL pH DE LA SOLUCION DE PENTOBARBITAL SODICO.**

Un fármaco será mejor absorbido y atravesará las barreras biológicas por difusión simple en la medida que esté menos ionizado. Según la teoría de la partición y la ecuación de Henderson-Hasselbach, el grado de ionización de un compuesto está en función de su pKa y del pH del medio que se encuentre (Goldstein, 1979); la ecuación siguiente muestra esta relación para ácidos débiles:

$$pH = pKa + \log \frac{[IONIZADA]}{[NO IONIZADA]}$$

La preparación del fármaco se hizo disolviéndolo en solución salina isotónica al pH fisiológico, sin embargo, a este valor de pH y a otros menores y cercanos al pKa del pentobarbital, la solución mostró precipitación. Este problema no fue el mismo cuando las soluciones tuvieron un

pH de  $9.0 \pm 0.05$  y  $9.5 \pm 0.05$  y fueron éstas las que se administraron I.P. a las unidades experimentales en ayuno.

En el contraste de hipótesis de estos resultados se planteó la posible existencia de diferencias significativas en la duración de los tiempos de latencia, sedación e hipnosis al administrar independientemente ambas soluciones de fármaco a los dos valores de pH.

Como podrá observarse en la tabla 3.2 (Pág. 20), prácticamente los resultados no difieren entre sí al pH de  $9.0 \pm 0.05$  y  $9.5 \pm 0.05$ ; esta es la misma conclusión que se obtuvo cuando se realizó el análisis estadístico correspondiente ( $p=0.05$ ), lo cual significa que para los objetivos marcados en el presente trabajo, el pentobarbital se absorbió en igual proporción a partir de cualquiera de los dos valores de pH de la solución preparada.

#### 4.4.2 INFLUENCIA DE LA PRESENCIA DE ALIMENTO Y AYUNO DE LOS ANIMALES.

Los resultados de la tabla 3.3 (Pág. 21) fueron contrastados estadísticamente para obtener la información que se muestra en la tabla 4.1.

TABLA 4.1

ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA DURACION DEL EFECTO FARMACOLOGICO EN RATONES MACHOS EN AYUNO CONTRA RATONES ALIMENTADOS *ad libitum*, A DOS VALORES DE pH.

TIEMPO DEL EFECTO	Ad libitum vs AYUNO pH = 9.0	Ad libitum vs AYUNO pH = 9.5
T.L	N.S	$p \leq 0.05$
T.S	N.S	N.S
T.H	N.S	$p \leq 0.05$

T.L: Tiempo de latencia  
T.S: Tiempo de sedación

N.S = No significativo

**T.H:** Tiempo de hipnosis

A pH de  $9.0 \pm 0.05$  no hay diferencias entre los animales mantenidos en ayuno y los animales con alimento sin restricción. Al administrar el fármaco a pH de  $9.5 \pm 0.05$  tampoco tuvo influencia la presencia de alimento en el tiempo de sedación. Solamente para el tiempo de latencia e hipnosis la diferencia fue altamente significativa, es decir, la presencia de alimento retrasa la aparición del efecto sedante en tanto que la duración de la hipnosis también es menor. En consecuencia, para los experimentos posteriores se determinó trabajar con soluciones de pentobarbital de  $pH = 9.5 \pm 0.05$  y con los animales en ayuno.

#### 4.4.3 INFLUENCIA DE LA VIA DE ADMINISTRACION EN RATONES DE DIFERENTE SEXO.

En la tabla 4.2 de esta página se indican los contrastes que fueron significativos en el análisis de las vías de administración estudiadas ( $p = 0.05$ ).

**TABLA 4.2**

#### ANALISIS ESTADISTICO PARA DURACION DEL EFECTO FARMACOLOGICO DEL PENTOBARBITAL SODICO ADMINISTRADO POR 3 VIAS EN RATONES HEMBRAS Y MACHOS.

TIEMPO DEL EFECTO	DIFERENCIA ENTRE VIAS DE ADMINISTRACION					
	HEMBRAS			MACHOS		
	LP. vs S.C.	I.P. vs I.M.	S.C. vs LM	LP. vs S.C	I.P. vs I.M.	S.C. vs LM
<b>T.L</b>	$p \leq 0.05$	$p = 0.05$	$p \leq 0.05$	$p \leq 0.05$	$p \leq 0.05$	$p \leq 0.05$
<b>T.S</b>	N.S	N.S	N.S	$p \leq 0.05$	N.S	N.S
<b>T.H</b>	$p = 0.05$	$p \leq 0.05$	N.S	N.S	N.S	N.S

De aquí puede concluirse que tanto para hembras como para machos hay marcadas diferencias entre los tiempos de latencia ya que se puede observar que éste es mayor a medida que disminuye el grado de irrigación de la zona de administración. Véase también la tabla 3.4 (Pág. 23).

Inclusive para la administración s.c. se observó que se forma un pequeño depósito de la solución inyectada a partir del cual se va absorbiendo el fármaco con una cinética que depende además de la liposolubilidad y pKa del compuesto. Lo anterior influye en que el tiempo de duración de la hipnosis en esta administración sea más prolongado que el de la inyección I.P.

**El tiempo de hipnosis, el cual comprende procesos farmacocinéticos de redistribución, metabolismo y eliminación del fármaco es el parámetro que varió más entre individuos del mismo sexo, el cual puede contrastarse comparando los valores de las desviaciones estándar de la tabla 3.4 (Pág. 23). A pesar de ello, solamente hay diferencias significativas en el caso de las hembras cuando se comparan las administraciones intraperitoneal vs subcutánea, e intraperitoneal vs intramuscular.**

En la mayoría de los ensayos realizados en el presente trabajo el tiempo de hipnosis en los ratones machos fue significativamente mayor al observado en las hembras. Esta observación no pudo ser confirmada en la literatura y en contraposición existe el dato de que la rata hembra es más sensible a los barbitúricos presentando un mayor tiempo de hipnosis que la rata macho, ya que en ésta, la hormona testosterona estimula la actividad enzimática (Esplugues, 1982; Litter, 1986).

#### **4.5 EFECTO DE LA PRESENCIA DE OTROS COMPUESTOS EN LA DURACION DEL EFECTO DEL PENTOBARBITAL SODICO.**

##### **4.5.1 AUTOINDUCCION METABOLICA.**

En un estudio realizado previamente en este mismo laboratorio, el efecto de autoinducción metabólica del pentobarbital se observó claramente después de la administración diaria del fármaco en dosis de 75 mg/Kg de peso durante alrededor de 20 días. La inyección I.P. practicada diariamente a los ratones de esos experimentos provocaba excesivo maltrato de los animales y la formación de un absceso en el lugar de la administración.

Una de las alternativas de trabajo propuestas para superar el problema fue emplear dosis más pequeñas de pentobarbital del orden de 55 y 40 mg/Kg de peso durante menos días de exposición al fármaco.

De los resultados mostrados en la tabla 3.5 (Pág. 25) y del análisis estadístico por comparaciones pareadas tanto para hembras como para machos, se observa que el efecto de hipnosis en dosis de 55 mg/Kg de peso al sexto día de administración es marcadamente menor que

el del primer día del estudio ( $p = 0.05$ ). No obstante esta capacidad metabólica aumentada, el proceso se recupera después de interrumpida la administración del fármaco (Esplugues, 1982) como se demuestra para el grupo 3 de ratones machos de la tabla 3.5 (Pág. 25) y gráfica III.1 (Pág. 26).

Aplicando una dosis de pentobarbital aún más pequeña, también se provocó un claro proceso de autoinducción. Los datos de la tabla 3.6 (Pág. 27) fueron analizados ( $p = 0.05$ ) contra un grupo control para el cual el tiempo de hipnosis es mayor en casi un 40 % al del grupo de inducción.

#### **4.5.2 INDUCCION METABOLICA CON FENOBARBITAL SODICO.**

Ya que el fenobarbital es un inductor metabólico más potente que el propio pentobarbital en el experimento diseñado en esta sección se vió claramente la reducción del tiempo de hipnosis en 3 o 4 días de su administración en ambos sexos ( $p = 0.05$ ), como se demuestra en la tabla 3.7 (Pág. 29).

#### **4.5.3 INHIBICION DEL METABOLISMO CON SKF.**

Cuando se administró el compuesto SKF para comprobar el efecto de inhibición metabólica contra grupos control de ambos sexos, también se pudo constatar que hay marcadas diferencias estadísticas ( $p = 0.05$ ) entre el tiempo de hipnosis del grupo control y el del grupo de inhibición (ver tabla 3.8 de la Página 31).

Respecto al pH de las soluciones de proadifeno que se administraron, se concluyó que no existieron diferencias estadísticas entre los tiempos de hipnosis registrados con el empleo de cada valor de pH, sin embargo por facilidad técnica se propone la preparación de este compuesto a un pH de  $6.2 \pm 0.05$ .

#### **4.5.4 INHIBICION DEL METABOLISMO CON CCl<sub>4</sub>.**

Se comprobó indirectamente el efecto de la hepatotoxicidad del CCl<sub>4</sub> sobre la duración de hipnosis producida por el pentobarbital. Como pudo observarse en la tabla 3.9 (Pág. 32), existe una significativa prolongación del efecto en los grupos de inhibición al compararlos con sus respectivos controles y al contrastar las hipótesis experimentales ( $p = 0.05$ ).

Los estudios anteriores de autoinducción, inducción e inhibición del metabolismo de los barbitúricos en forma general fueron demostrados para ambos sexos, sin embargo, la apreciación de estos efectos se observó con menores variaciones en ratones hembras.



#### 4.6 ENSAYOS PARA ESTUDIAR LA RELACION DOSIS-RESPUESTA CUANTAL.

La sensibilidad de los animales y del hombre a los fármacos es extremadamente variable. Existen diferencias de susceptibilidad de una especie a otra, dentro de una misma especie y aún en el mismo individuo. Dentro de una misma especie, se encuentran diferencias de susceptibilidad que en su mayor parte son continuas y siguen una distribución normal del tipo gaussiano las cuales resultan de factores hereditario poligénicos, del estado del fenotipo, así como del medio ambiente en el que se encuentra el organismo (Wepierre, 1988).

En el presente estudio se evaluó la seguridad del pentobarbital sódico, mediante la determinación de los parámetros dosis efectiva cincuenta (DE50), dosis letal cincuenta (DL50), índice terapéutico (I.T.) y factor de seguridad (F.S.).

Las DE50 y la DL50 como ya es sabido, son empleadas para expresar la cantidad mínima necesaria de un fármaco para provocar un efecto ya sea farmacológico o letal respectivamente en el 50% de una población.

Existen diversos métodos para determinar el valor de estos parámetros y sus límites de confiabilidad, entre ellos se pueden mencionar el de análisis de PROBIT de Gaddum-Bliss-Tinney y el gráfico de Litchfield y Wilcoxon.

##### 4.6.1 ESQUEMAS DE ASIGNACION DE DOSIS ALEATORIO Y "CULEBRA JAPONESA".

Mediante estos dos procedimientos se asignó una dosis a cada unidad experimental para valorar la variación biológica "todo o nada". Ambos procedimientos fueron completamente al azar cuidando que los factores debidos al sexo, a la edad, al peso, etc., de los animales no constituyeran una fuente de error significativa en los resultados obtenidos.

Con el primer procedimiento aleatorio, el número de ratones por grupo o por dosis varió en general de 8 a 9 lo que en total representó el empleo de 102 hembras y 94 machos. En este caso se estudiaron exclusivamente el efecto cuantal para la hipnosis y la letalidad provocada por el pentobarbital sódico en 12 niveles de dosis para 12 grupos de animales.

El problema de emplear un número muy elevado de animales fue superado al recurrir al procedimiento de la "culebra japonesa" en la cual solamente se formaron 7 grupos de ratones para 7 niveles de dosis. De esta forma se estimaron los efectos sedante, hipnótico y letal con el empleo de 42 hembras y 42 machos en total, es decir, menos del 50% de los animales estudiados con el procedimiento anterior.

#### 4.6.2 RESULTADOS DE LA RELACION DOSIS-RESPUESTA CUANTAL.

Comparando los valores de los parámetros en la evaluación de la seguridad del pentobarbital (ver tabla 3.15 de la página 46), se observa que no existen diferencias apreciables dentro de un mismo sexo al aplicar la dosis en forma aleatoria o en la "culebra japonesa". Las pequeñas variaciones que existen entre los valores se deben precisamente a variabilidad biológica de los individuos estudiados.

El valor de la DL50 por vía I.P. en ratones determinado en este trabajo, no difiere de 130 mg/Kg de peso, que es el dato reportado en la bibliografía. Según Loomis (1978) y Clarke (1975), para las vías intravenosa, intramuscular, subcutánea y oral el valor respectivo de la DL50 es de 80, 124, 130 y 280 mg/Kg de peso.

De igual manera se puede comentar que aún para ambos sexos, estos parámetros no varían en forma determinante a excepción de la DE50s y del I.Ts-M, parámetros que están más influidos por la apreciación visual del experimentador al valorar la sedación, como la primer etapa de la depresión del SNC.

Una de las desventajas que presentan el procedimiento de asignación de dosis "culebra japonesa" se atribuye a la menor precisión del cálculo del factor de seguridad (F.S) en comparación al que se obtuvo en la asignación aleatoria, posiblemente debido al ajuste de la recta cuando se grafica el logaritmo de la dosis versus Unidades Probits.

Los datos de las tablas 3.10 (Pág. 34) y 3.11 (Pág. 35) fueron posteriormente analizados con el método de Litchfield y Wilcoxon (1949) para establecer las DE50 y DL50 con sus límites de confianza al 95%. Este procedimiento fue realizado empleando PROBITS y estimaciones estadísticas de  $\text{Chi}^2$ , parámetro que se basa en comparación de desviación estándar. Para todos los cálculos realizados, los cuales se resumen en la tabla 4.3 (Pág. 55), se encontró que no hay heterogeneidad de los datos por lo que el ajuste de los mismos fue el adecuado.

**TABLA 4.3**

**VALORES DE DE50 Y DL50 CON LIMITES DE CONFIANZA AL 95% CALCULADOS POR EL METODO DE LITCHFIELD Y WILCOXON.**

	<b>HEMBRAS</b>	<b>MACHOS</b>
<b>DE50<sub>H-M</sub></b> <b>(mg/Kg)</b> <b>LIMITE DE CONFIANZA</b> <b>AL 95%</b>	36.98 32.52-42.09	35.31 31.45-39.66
<b>DL50</b> <b>(mg/Kg)</b> <b>LIMITE DE CONFIANZA</b> <b>AL 95%</b>	132.43 121.94-143.82	123.59 113.59-134.50

Los resultados de la DE50 H-M con sus límites de confianza no difieren en relación al sexo, caso contrario al que se presenta para la DL50 y su intervalo de confianza en el que las hembras mueren a dosis más elevadas que los machos

Finalmente, durante la realización de estos experimentos se presentaron casos aislados en la que en ocasiones tuvo que aumentarse a 320 y 350 mg/Kg de peso la dosis del pentobarbital para lograr 100% de mortalidad; esto conduce a plantear la hipótesis de que entre otros factores, existen individuos demasiado tolerantes a dosis muy elevadas en comparación al promedio de la población en general.

## CAPITULO 5

### CONCLUSIONES.

1. No se presentaron diferencias significativas ( $p = 0.05$ ) en la duración del efecto farmacológico al administrar el barbitúrico en solución de  $pH = 9.0 \pm 0.05$  o de  $9.5 \pm 0.05$ .
2. La presencia de alimento retrasa la aparición de los efectos depresores del pentobarbital con más influencia cuando el fármaco se administra a  $pH$  de  $9.5 \pm 0.05$  de tal forma que para fines prácticos, se propone la administración I.P. a este  $pH$  y con los animales en ayuno.
3. Factor determinante para la aparición del efecto farmacológico es la vía de administración: la administración subcutánea presentó mayor tiempo de latencia en tanto que la vía intraperitoneal ofrece más rapidez de absorción del fármaco. En relación al sexo de los animales se observó mayor duración de la hipnosis en machos que en hembras.
4. Se observó que la preparación del fenobarbital sódico a  $pH$  de 8 fue la más adecuada para evitar la precipitación del compuesto.
5. A nivel metabólico el pentobarbital y el fenobarbital demostraron su capacidad inductora en los procesos microsomales, los cuales fueron evaluados indirectamente por la duración disminuida del efecto hipnótico ensayando dosis diferentes durante 3 a 5 días de exposición. Existe recuperación metabólica al suspender la exposición repetida a los barbitúricos.
6. Los experimentos de inducción metabólica fueron mejor estudiados en ratones hembras que en ratones machos.
7. Preparando el SKF a  $pH$  de  $6.2 \pm 0.05$  y de  $9.5 \pm 0.05$  no se presentó diferencia estadística en el efecto inhibitorio del metabolismo en ambos sexos, sin embargo se prefiere prepararlo a  $pH$  de  $6.2 \pm 0.05$  porque en este caso no hay opalescencia de la solución.
8. El tetracloruro de carbono indujo daño hepático en los ratones y de esta manera el efecto hipnótico del pentobarbital se vió aumentado en ambos sexos ( $p = 0.05$ ).
9. Con el método de la "culebra japonesa" se reduce el número de animales empleados para las demostraciones dosis-respuesta cuantales.
10. Los límites de confianza al 95 % de la  $DE_{50H}$  para el pentobarbital por vía i.p. fue de 32.52 a 42.09 mg/Kg de peso para hembras y de 31.45 a 39.66 mg/Kg de peso para machos. En general los ratones machos mostraron más sensibilidad al pentobarbital.

11. Se obtuvieron valores de los límites de confianza al 95 % de la DL50 para el pentobarbital por vía i.p. de 121.94 a 143.82 mg/Kg de peso para hembras y de 113.59 a 134.50 mg/Kg de peso para machos, los cuales concordaron con la bibliografía. Estos resultados muestran que las hembras requieren dosis más elevadas del fármaco para presentar efectos letales.
12. Todos los resultados obtenidos en el presente trabajo servirán de apoyo para el mejoramiento de las sesiones prácticas del laboratorio de Farmacología.

## BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Andrews P. R. and Mark L. C. Structural Specificity of Barbiturates and Related Drugs. *Anesthesiology*, 1982, 57 : 314-320.
- 2.- Boehring Ingelherim Laboratorios. Interacción de los Medicamentos. *Tribuna Médica*, 1984, 2: 22-35.
- 3.- Bowman W. C and Rand M. J. *Farmacología Bases Bioquímicas y Patológicas Aplicaciones Clínicas*, 2a. Ed. Editorial Interamericana, 1984 : 8.4 - 8.10
- 4.- Clarke E.G.C. *Isolation and Identification of Drugs*, 1974 vol. 1 : 240, 486, 473, 474, y vol 2 1975 : 904, 1087
- 5.- Craing C. R. and Shideman F.E. Metabolismo and Anticonvulsant Properties of Mephobarbital and Phenobarbital in rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1971, 176: 35 - 41
- 6.- Crestel T., Baune P., Celier C. Cytochrome p-450 Isoenzyme Content and Monooxygenase Activities in Rats Liver: Effect of Ontogenesis and Pretreatment by Phenobarbital and 3-methylcholanthrene. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1986, 236: 269 -276.
- 7.- Daniels T. C. and Jorgesen E. C. Central Nervous System Depressant. *Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry* 7a. Ed. J.B Lippincottco, Philadelphia, 1977 : 63.
- 8.- Ehrnero M. Pharmacokinetics and Distribution properties of Pentobarbital in Humas Following Oral and Intervenous Administration. *Journal of Pharmaceutical sciences*. 1974, 63 : 1114 - 1118.
- 9.- Esplugues J. *Perspectivas Terapéuticas con su fundamento Farmacológico*. *Farmacología General*. Fundación García Muñoz Vol VII. 1982 : 171 - 196.
- 10.- *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos S. S. A.* 7a Ed. México D.F. 1988 : 673-674.
- 11.- Gillete R. James, Mitchell R. Jerry and Brodie B. Bernald. Biochemical Mechanisms of Drug Toxicity. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 1974, 14 : 271 - 288.
- 12.- Goldstein, L. A.; Arowon S.; Kalman M. *Farmacología*. 2a Ed. Editorial Limusa México. 1979 : 267 - 350.

- 13.- Goodman Gilman Alfredo, W. Teodoro, Nies S. Alan, Taylor Palmer. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica 8a Ed. Editorial Panamericana, 1991 : 349, 356-363, 1569.
- 14.- Goth, A.; Clark, B. Farmacología clínica 2a. Ed. Editorial Panamericana, 1990 : 621
- 15.- Ho I.K. and Harris Adron R. Mechanism of Action of Barbiturates. Annual Review of Pharmacology and Toxicology. 1981, 21 : 83 - 111.
- 16.- Irwin S. Ph. D. Drug Screening and Evaluation of New Compounds in Animals, In: Nodine, JH and Siegler P. E. Animal and Clinical Pharmacologic Techniques in Drug Evaluation. Year Book Medical Publisher inc., Chicago, 1964.: 36-54.
- 17.- Jelleff Carr C. Food and Drug interactions. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 1982, 22: 19 - 29.
- 18.- Kalf F. G.; Post B. G. and Snyder R. Solvent Toxicology: Recent Advances in the Toxicology of Benzene, the Glycol, Ethers and Carbon Tetrachloride. Annual Review of Pharmacology and Toxicology. 1987, 27: 399-427.
- 19.- Katzung Bertram G. Farmacología Básica y Clínica 4a. Ed. El Manual Moderno, 1991 : 8.
- 20.- Kirt E. Raymon. Enciclopedia de Química. 3a. Ed. 1982 : 416-444.
- 21.- Ley General de Salud. Secretaria de Salud. Dirección General de Asuntos Jurídicos, 14 de junio de 1991 : 76-82.
- 22.- Litchfield J.T. and Wilcoxon F. Method of Litchfield and Wilcoxon Confidence Limits of ED50. Journal Pharmacol Experimental Therapeutic. 1949, 96: 59 - 63, 134 - 146.
- 23.- Litter Manuel. Farmacología Experimental y Clínica. 7a. Ed., Editorial el Ateneo, 1986: 179 - 237, 238 - 252.
- 24.- Lock A. Eduardo, Mitchell M. Angelica and Elcombe R. C. Biochemical Mechanism on Induccion of Hepatic Perixome Proliferation. Annual Review of Pharmacology and Toxicology. 1989, 29: 145 - 163.
- 25.- Loelu M. Franklin, Cohen J. Benett. Laboratory Animal Medicine. Editado por Jame G Fox Bennet J. Cohen. 1984, 31 - 44.
- 26.- Loomis T. A. Fundamentos de Toxicología. Editorial Acriba. España, 1978 : 98.
- 27.- Macdonald, R. L. and McLean, M. J. Cellular Bases of Barbiturate an Phenytoin Anticonvulsant Drug Action. Epilepsia, 1982, 23 Suppl 1 : 7s-18s.

- 28.- Madrigal B. E.; Cassini G.M. Estudio Citogenético "In vitro" del Efecto Producido por el Fenobarbital. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. 1989, 20: 20 - 25.
- 29.- Manual de Tecnicas y Procedimientos para Identificación de Estupefacientes. Secretaria de Salud, 1989 México, D.F. : 27-28
- 30.- Mark, L. C. Metabolism of Barbiturate in Man. *Clin. Pharmacology and Therapeutical*, 1963, 4: 504.
- 31.- Michenfelder J. D. Barbiturates for Brain Resuscitation: yes o no. *Anesthesiology*, 1982, 57 : 874-875.
- 32.- Miller V. Elliot; Max Benii Cass Jules. *Comparative Anesthesia in Laboratory Animals 2a*. Ed., 1969 : 1528-1532.
- 33.- Ohnhaus E.E, Gerber E. and Park B. K. Enzyme-Inducing Drug Combinations and Their Effects on Liver Microsomal Enzyme Activity in Man. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 1983, 24: 247 - 250.
- 34.- Poole A., G.B Leslie. *A Practical To Toxicological Investigations*. Cambridg University Press, 1989 : 30 - 35.
- 35.- Rowan N. Andrew, Goldberg M. Alan. perspectives on Alteratives to Current Animal Testing Techniques in Preclinical Toxicology. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 1985, 25: 225 - 247.
- 36.- Shapiro H. M. Barbiturates in Brain Ischaemia. *Anesthesiology*, 1982, 57 : 82-95.
- 37.- Wayne W. Daniel. Bioestadísticas. Bases para el Análisis de las Ciencias de la Salud 4a. Ed. 1983: 175 - 178, 453.
- 38.- Wepierre J. manual de Farmacología General y Molecular. 1er Ed. Editorial Masson, S.A. París, 1988 : 151-166.
- 39.- Whitlock P. James. The regulation of Citochrome p450 Gena Expression. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 1986, 26: 333 - 369.



