

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION

Instituto de Farmacología

Director: Prof. Dr. Sergio Lecannelier Rivas

## Estudio sobre el mecanismo de acción de la papaverina en el intestino del conejo. Efectos de algunas condiciones metabólicas

por

Lecannelier, S., Bardisa, L. y Pfister, I.

(Recibido por la Redacción el 1º-VI-1950)

### INTRODUCCION

Desde el año 1941 se han realizado una serie de trabajos de los cuales se investigaban los factores metabólicos que influyen en el tonus y recuperación de la fibra muscular lisa (1-2-3-4-5-6-7).

Nos ha parecido conveniente utilizar efectores a base de fibra muscular lisa, como la preparación de intestino aislado de conejo, para investigar el mecanismo de acción de un fármaco cuya acción espasmolítica se considera típica, la papaverina, por ser éste uno de los primeros fármacos que poseía esta acción y ser empleada como referencia en estudios posteriores de nuevos fármacos espasmolíticos.

La acción de este fármaco sobre la fibra muscular lisa ha sido ampliamente estudiada (8-9-10-11-12-13-14-15-16-17-18-19-20-21-22) habiéndose demostrado que su acción se ejerce directamente sobre la fibra muscular lisa y no por intermedio del sistema neuro-vegetativo.

Hemos creído probable que este fármaco interfiere en alguna fase del metabolismo de la fibra muscular lisa, en una etapa que es necesario determinar, en forma semejante a las experiencias realizadas para determinar el mecanismo de acción de la morfina y de otros fármacos afines por acción en el metabolismo celular (23-24-25-26-27) y a los estudios de **Mardones** y colaboradores sobre el mecanismo de acción de la digital (28).

En el presente trabajo se estudia en forma cuantitativa la acción de la papaverina sobre la preparación de intestino aislado de conejo, su modificación por la presencia de metabolitos y del clorhidrato de tiamina.

## M E T O D I C A

### A. Preparación de intestino aislado.

Se utilizaron conejos adultos de ambos sexos y de peso variable entre 1200 a 1800 g.

Se sacrificó el animal por traumatismo craneano, se extrajo de la porción terminal del intestino varios trozos de tres a cuatro centímetros de largo. Estos trozos se lavaron con solución Tyrode a 38° y se mantuvieron en un matraz con dicha solución colocado en una estufa termo-regulada a 38° y con aereación permanente.

Para la inscripción del tonus y de los movimientos espontáneos se utilizó la técnica de Magnus (29) con las modificaciones ya descritas por nosotros (30-31-32) en trabajos anteriores.

Se estudió el efecto de distintas concentraciones de papaverina sobre los movimientos espontáneos, sobre el tonus y sobre la recuperación de una contracción producida por acetilcolina.

#### 1.—Sobre los movimientos espontáneos

Se esperó que se normalizaran los movimientos espontáneos y se agregó papaverina en dosis de: 0.35 - 0.7 - 1.4 - 2.8 mg. por ml.

#### 2.—Sobre el tonus

Una vez estabilizado el tonus se agregó al baño 28.6 microgramos de acetilcolina por 100 ml., alcanzado el nuevo tonus se colocó papaverina en las mismas dosis anteriores.

Se midió la magnitud de la relajación a los 30 segundos de adicionada la papaverina, expresándose en porcentaje de la altura de la contracción acetilcolínica.

#### 3.—Efecto sobre la recuperación después de una contracción acetilcolínica

Se trabajó con trozos que presentaban pocos movimientos espontáneos y se agregó al baño 28.6 microgramos de acetilcolina. Obtenido el máximo de contracción se lavó dos veces, se agregó papaverina en las dosis mencionadas; se esperó sesenta segundos y se agregó nuevamente a la misma dosis de acetilcolina.

Se midieron ambas contracciones en milímetros; tomando la primera como referencia, se expresó la segunda en tanto por ciento de recuperación, haciendo el reposo en diferentes condiciones metabólicas.

## B. Soluciones empleadas.

**Solución Tyrode:** fué preparada en la forma clásica (33) y con reactivos purísimos, siendo controlado en Ph periódicamente en un potenciómetro Beckman.

Según la modalidad de la experiencia, la solución Tyrode se preparó sin metabolitos, con glucosa, con acetato de sodio al 1‰ (en ácido acético), en algunos casos se adicionó al Tyrode glucosado clorhidrato de tiamina en una concentración de 1 mg. por 100 ml.

**Solución de acetilcolina:** se usó Presicolina Petrizzio en solución de 0.1% que corresponde a 10 microgramos de acetilcolina por ml.

**Solución de papaverina:** se utilizó clorhidrato de papaverina Merck en concentración de 100 - 50 - 25 - 12.5 mg. % de las que se adicionó 1 ml. al baño de 34 ml. de capacidad, resultando concentraciones de 2.26 - 1.43 - 0.715 - 0.357 mg. %.

## C. Cálculos estadísticos.

Se siguieron las indicaciones de **Günther, B.** y de **Pizzi, M.** (34-35).

## RESULTADOS

- A.—Acción de concentraciones crecientes de clorhidrato de papaverina sobre los movimientos espontáneos de la preparación de intestino aislado de conejo.
- B.—Acción de concentraciones crecientes de clorhidrato de papaverina sobre el tonus aumentado por la acetilcolina de la preparación de intestino aislado de conejo.
- C.—Acción de concentraciones crecientes de clorhidrato de papaverina sobre la recuperación entre dos estímulos acetilcolínicos en diferentes condiciones metabólicas.

## R E S U L T A D O S

### A.—Acción de concentraciones crecientes de clorhidrato de papaverina sobre los movimientos espontáneos

Se realizaron 50 protocolos con distintas concentraciones que se presentan en forma de un cuadro resumen.

CUADRO RESUMEN N° 1

Concentración en mg. % (1)	N° protocs. (2)	Sin efecto (3)	Inhibición parcial (4)	Inhibición total (5)
0.35	7	7	0	0
0.7	18	1	15	2
1.4	12	0	6	6
2.8	13	0	3	10

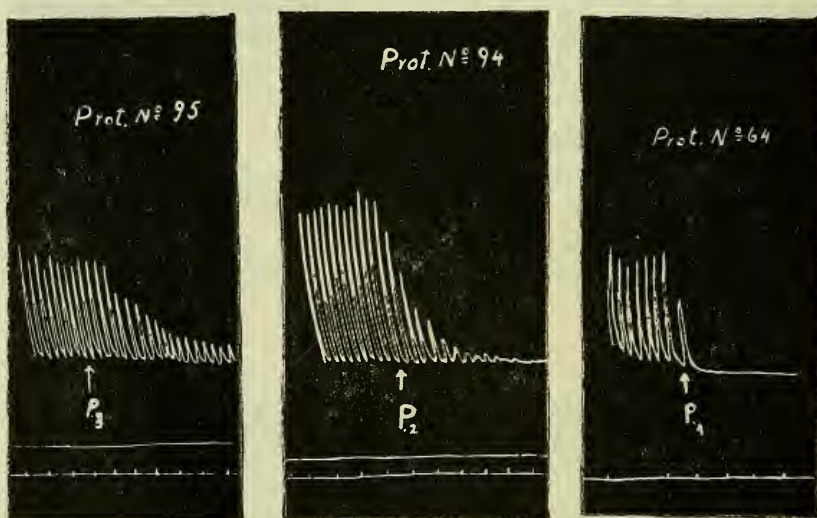


FIGURA N.º 1

Preparación del intestino aislado de conejo.

P<sub>3</sub> -P<sub>2</sub> -P<sub>1</sub> - corresponde a 0.7-1.4-2.8 mg. de papaverina %.

Tiempo: 30 seg.

**B.—Acción de concentraciones crecientes de clorhidrato de papaverina sobre el tonus**

Estos resultados fueron agrupados en forma de cuadros que por la limitación del espacio no se colocan, presentando sólo un cuadro resumen de los 73 protocolos realizados.



CUADRO RESUMEN N° 2

Efecto del clorhidrato de papaverina sobre el tonus de la preparación de intestino aislado de conejo, aumentado por 28.6 microgramos de acetilcolina por 100 ml.

Concentración en mg. % (1)	Nº de protocolos (2)	Relajación media en % (3)	D. Standard del T. M. (4)
0.35	14	19.8	2.42
0.7	18	62.1	8.29
1.4	22	90.58	7.25
2.8	19	101.8	3.05

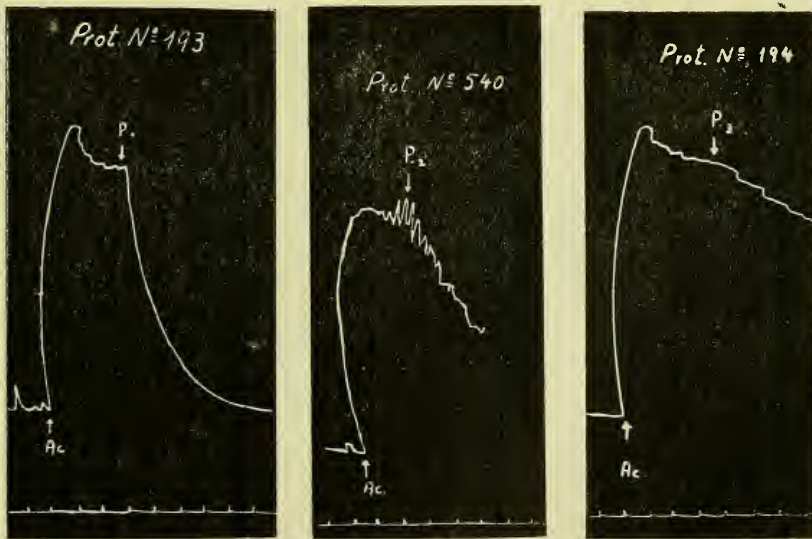


FIGURA N.º 2

Preparación de intestino aislado de conejo.  
Ac - Acetilcolina 28.6 microgramos %. Tiempo: 30 seg.  
P<sub>1</sub> - P<sub>2</sub> - P<sub>3</sub> - corresponde a 2.8-1.4-0.35 mg. de papaverina %.

**C.—Acción de concentraciones crecientes de clorhidrato de papaverina sobre la recuperación de intestino aislado de conejo**

Estos resultados fueron agrupados en cuadros. Debido al reducido espacio, se confeccionaron cuadros resúmenes, en los cuales cada resultado corresponde a un cuadro semejante al N° 16 que se presenta como ejemplo.

CUADRO N° 16 (ejemplo)

Recuperación de la preparación de intestino aislado de conejo en Tyrode con glucosa y clorhidrato de tiamina, en una concentración de papaverina de 0.35 mg. %, a los sesenta segundos.

Estímulo acetilcolina 28.6 microgramos %.

	N° de prot. (1)	1ª con- tracción (2)	2ª con- tracción (3)	% de recu- peración (4)	Dif. (5)	(Dif.) <sup>2</sup> (6)
1	451	70	75	107.1	10.9	118.81
2	453	90	75	83.3	12.9	166.41
3	455	79	78	98.7	2.5	6.25
4	457	32	34	106.2	10.0	100.00
5	460	39	36	92.3	3.9	15.21
6	466	37	31	83.7	12.5	156.25
7	470	35	33	94.2	2.0	4.00
8	474	40	39	97.5	1.3	1.69
9	476	39	38	97.4	1.2	1.44
10	494	43	42	97.6	1.4	1.96
12	498	31	33	106.4	10.2	104.04
11	434	41	38	92.6	3.6	12.96
13	500	33	36	109.09	12.89	166.16
14	501	33	32	96.9	0.7	0.49
15	506	51	47	92.1	4.1	16.81
16	514	51	49	96.07	0.13	0.01
17	518	59	50	84.7	11.5	132.25

Recuperación media: 96.2.

Desviación standard del término medio: 1.92.

CUADRO RESUMEN N° 3

Porcentaje de recuperación media en distintas concentraciones de clorhidrato de papaverina en Tyrode sin metabolitos a los sesenta segundos.

Estímulo acetilcolina 28.6 microgramos %.

Dosis de papaverina (1)	N° de protocolos (2)	Recuperación media en % (3)	D. Standard del T. M. (4)
0.00	18	98.7	0.84
0.35	20	80.3	1.92
0.7	18	61.9	0.39
1.4	17	42.1	3.00
2.8	21	13.1	1.80

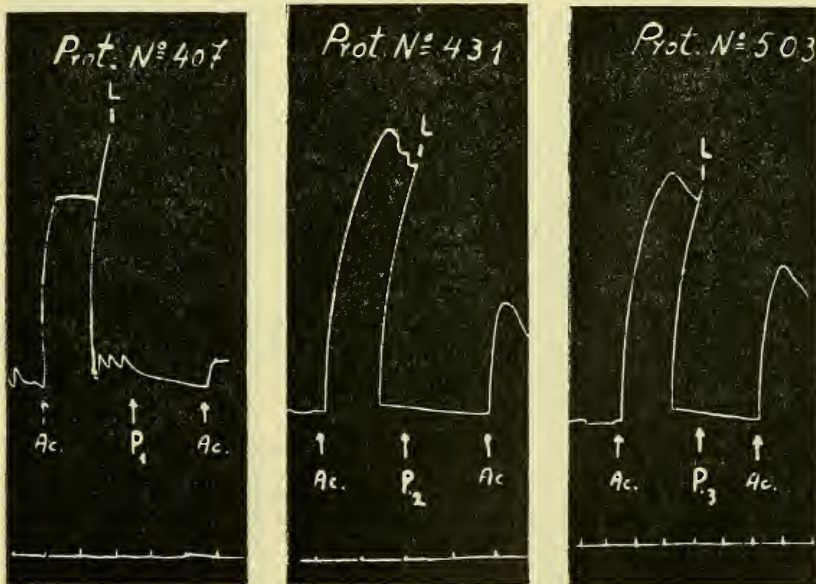


FIGURA N.º 3

Preparación de intestino aislado de conejo.

Ac - Acetilcolina 28.6 microgramos %. Tiempo: 30 seg.

P<sub>1</sub> - P<sub>2</sub> - P<sub>3</sub> - corresponde a 2.8-1.4-0.7 mg. de papaverina %.

CUADRO RESUMEN N° 4

Porcentaje de recuperación media en distintas concentraciones de clorhidrato de papaverina en Tyrode con acetato a los sesenta segundos. Estímulo acetilcolina 28.6 microgramos %.

Dosis de papaverina (1)	N° de protocolos (2)	Recuperación media en % (3)	D. Standard del T. M. (4)
0.00	18	99.8	1.55
0.35	17	92.4	1.46
0.7	17	73.1	2.90
1.4	17	56.6	2.90
2.8	18	29.06	2.76

CUADRO RESUMEN N° 5

Porcentaje de recuperación media en distintas concentraciones de clorhidrato de papaverina en Tyrode con glucosa a los sesenta segundos. Estímulo acetilcolina 28.6 microgramos %.

Dosis de papaverina (1)	N° de protocolos (2)	Recuperación media en % (3)	D. Standard del T. M. (4)
0.00	18	101.3	1.65
0.35	18	93.5	2.15
0.7	19	89.4	2.29
1.4	19	67.5	3.22
2.8	20	40.5	3.40



CUADRO RESUMEN N° 6

Porcentaje de recuperación media en distintas concentraciones de clorhidrato de papaverina en Tyrode con glucosa y tiomina a los sesenta segundos.

Estímulo acetilcolina 28.6 microgramos %.

Dosis de papaverina (1)	Nº de protocolos (2)	Recuperación media en % (3)	D. Standard del T. M. (4)
0.00	18	98.5	1.95
0.35	17	96.2	1.92
0.7	19	85.3	1.48
1.4	20	68.2	3.31
2.8	19	36.4	3.67

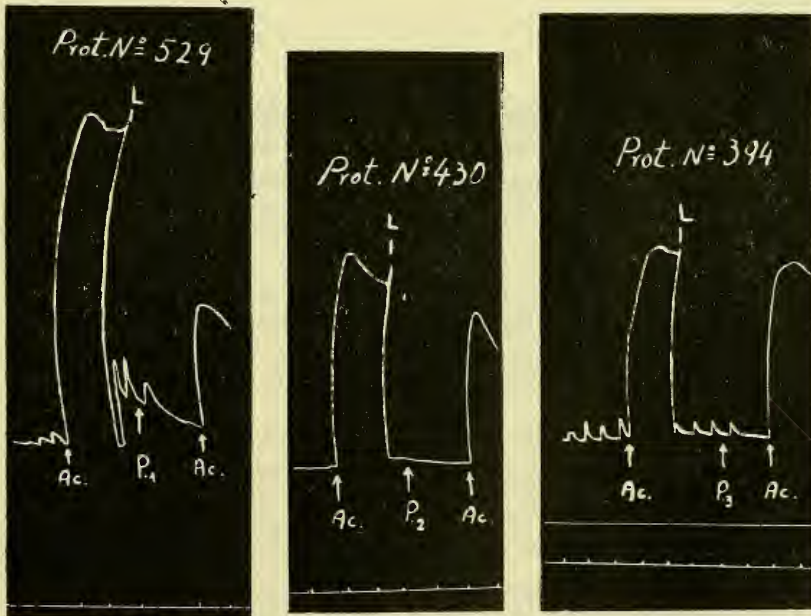


FIGURA N.º 6

Preparación de intestino aislado de conejo.

P<sub>1</sub> -P<sub>2</sub> -P<sub>3</sub> - corresponde a 2.8-1.4-0.7 mg. % de papaverina.

Ac - Acetilcolina 28.6 microgramos %. Tiempo: 30 seg.

### CUADRO Nº 7

Resumen estadístico de los resultados anteriores. Valores significativos entre la recuperación media a los sesenta segundos para distintas concentraciones de papaverina y en diversas condiciones metabólicas.

Condiciones metabólicas	Concentraciones de papaverina				
	0.00	0.35	0.7	1.4	2.8
s. metab. - c. gluc.	1.84	4.59	2.34	5.57	3.85
s. metab. - c. acet.	0.62	5.45	3.95	2.80	3.29
c. gluc. - c. acet.	0.66	0.42	4.42	3.47	2.61
c. gluc. - c. gluc. - tiam.	1.06	0.96	1.50	0.19	0.81

**Recuperación de la preparación de intestino aislado de conejo en distintas condiciones metabólicas y en concentraciones creciente de papaverina**

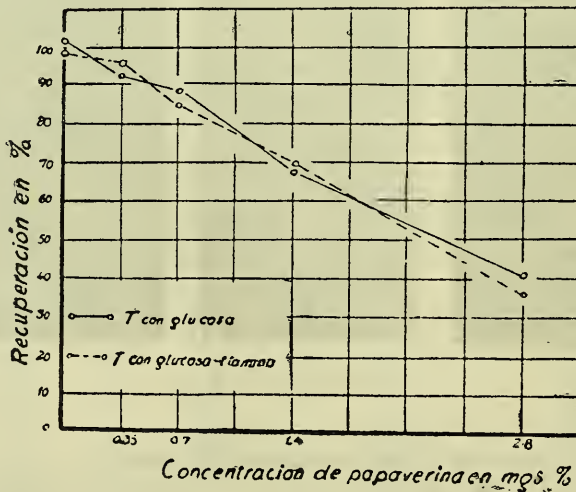


GRAFICO N.º 1

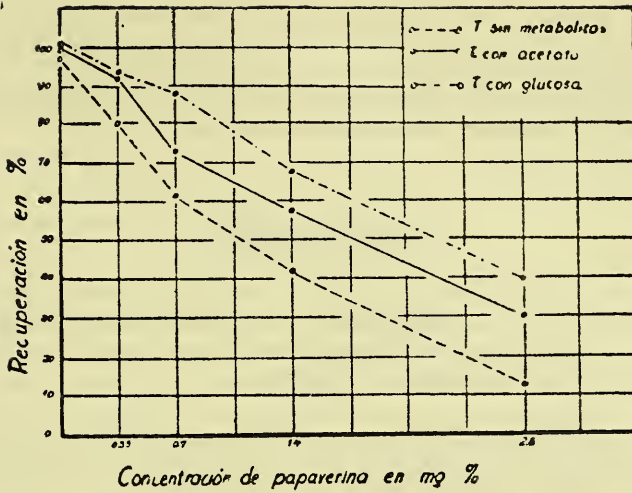


GRAFICO N.º 2

## DISCUSION DE RESULTADOS

De los resultados expuestos se puede deducir que la acción de la papaverina sobre los movimientos espontáneos y sobre el tonus es función de la dosis.

La inhibición de una segunda contracción provocada por un estímulo fisiológico, cual es la acetilcolina, es también proporcional a la dosis y es disminuída por las condiciones metabólicas estudiadas, es decir, la adición al medio de acetato, glucosa-tiamina.

Es interesante hacer resaltar que la glucosa inhibe en mayor grado que el acetato la acción de la papaverina, siendo esta diferencia de acción metabólica estadísticamente significativa, excepto en la dosis más baja, en la cual el acetato y la glucosa producen el mismo efecto.

Otro hecho interesante es que la adición de tiamina al Tyrode glucosado, utilizado a la concentración óptima, que hemos encontrado para potenciar el efecto de la acetilcolina (36), no modifica en forma significativa la inhibición del efecto de la papaverina por la glucosa.

Queda de esta forma planteado el problema de buscar la etapa metabólica en la cual ejerce su acción la papaverina, siendo esto motivo de estudios en los cuales se investiga la acción de otros metabolitos y coenzimos.

Otro motivo que nos hace pensar que nuestra hipótesis de trabajo es acertada, es el hecho de que se ha demostrado para otros fármacos como la morfina y el pentotal (23-27), una acción inhibitoria sobre el metabolismo de los hidratos del carbono y aún precisado el lugar de su acción.

### CONCLUSIONES

- 1.—El clorhidrato de papaverina inhibe los movimientos espontáneos y el tonus de la preparación de intestino aislado de conejo en proporción a la dosis.
- 2.—El clorhidrato de papaverina disminuye la recuperación a un estímulo acetilcolínico de la preparación de intestino aislado de conejo en proporción a la dosis.
- 3.—Esta inhibición es disminuída por el acetato de sodio y glucosa, adicionados al medio fisiológico.
- 4.—El clorhidrato de tiamina en una concentración de 1 mg. para 100 ml., no modifica la recuperación de esta preparación en Tyrode con glucosa.
- 5.—Se discuten estos resultados.

### RESUMEN

Clorhidrato de Papaverina inhibe los movimientos espontáneos y el tonus de la preparación de intestino aislado de conejo proporcionalmente a la dosis. Disminuye también la recuperación a un estímulo acetilcolínico en proporción a la dosis. Esta inhibición es disminuída por el acetato de sodio y glucosa agregados al medio fisiológico.

### SUMMARY

Papaverine chloride inhibits the spontaneous movements and tonus of isolated intestinal preparations of rabbits proportionally to the administered dosage. It also decreases recuperation to an acethylcholine stimulus in Proportion to the dosage.

The addition of Sodium Acetate and Glucose to the physiological medium diminishes the afore-mentioned inhibition.



## BIBLIOGRAFIA

- 1.—LECANNELIER, S.—Influencia de algunas condiciones metabólicas sobre el tonus y velocidad de recuperación del músculo liso. Tesis Univ. de Chile (1941).
- 2.—MARDONES, J., LECANNELIER, S., TORRES, R. y VALDES, E.—Acción de algunos metabolitos en la velocidad de recuperación del músculo liso. Bol. Soc. Biol. Santiago. 2: 78-82 (1945).
- 3.—MARDONES, J., LECANNELIER, S., TORRES, R. y LARRAIN, S.—Estudio de la acción de algunos metabolitos sobre el tonus del músculo liso del intestino aislado de cuy. Bol. Soc. Biol 2: 57-61 (1945).
- 4.—TORRES, R.—Estudio de la influencia de la glucosa, ácido láctico y succínico sobre el tonus del músculo liso. Tesis Univ. de Chile (1943).
- 5.—LARRAIN, S.—Estudio de la acción de algunos metabolitos sobre el tonus del músculo liso de intestino aislado de cuy. Tesis Univ. de Chile (1944).
- 6.—CASTILLO, A.—Influencia de algunos metabolitos sobre el tonus del músculo aislado. Tesis Univ. de Chile (1946).
- 7.—VALDES, E.—Influencia de algunas condiciones metabólicas en la velocidad de recuperación de la excitabilidad del músculo liso del intestino aislado de cuy. Tesis Univ. de Chile (1944).
- 8.—SCHITTENHELN, A.—De la terapéutica de las alteraciones funcionales debidas a sobretensión por la papaverina y la eupapaverina. An. E. Merck. Págs. 360-364 (1937).
- 9.—MUSE, M. B.—Pharmacology & Therapeutics. Págs. 141-161. Philadelphia. W. B. Saunders Co. (1944).
- 10.—STARZENSTEIN, E.—Tratado de Farmacología, Toxicología y Arte de recetar. Pág. 181. Barcelona. Labor S. A. (1946).
- 11.—GUERRA, F.—Farmacología Experimental. Pág. 116. Méjico. Uteha (1946).
- 12.—POULSSON, E.—Farmacología. Págs. 92-96. Barcelona. Labor S. A. (1926).
- 13.—SOTO, M.—Farmacología y Terapéutica. Tomo 2. Págs. 1011, 1155, 1383. Buenos Aires. El Ateneo (1944).
- 14.—CLARK, A. J.—Applied Pharmacology. Pág. 444. Philadelphia. The Blakiston Co. (1949).
- 15.—GRAM, J. D. P.—A Comparison of Some Anti-histamine Sustances. J. Pharm. & Exp. Ther. 91: 103 (1947).
- 16.—PAL, J.—Papaverina y eupapaverina. An. E. Merck. Pág. 329 (1931).
- 17.—BLUMGARTEN, A. S.—Textbook of Materia Medica Pharmacology & Therapeutics. Págs. 531, 368, 420. New York. Macmillan Co. (1941).
- 18.—BLICKE, F. E.—Sytetic Drugs-Antispasmodics. Annual Rev. of Bioch. Vol. XIII. Págs. 552, 553, 557. Stanford University P. O. California. Annual Reviews Inc. (1944).
- 19.—LESPAGNOL, A.—Les Succédanés Synthétiques de L'Opium. Actualités Pharmacologiques. Págs. 145-161. París. Masson et Cie. (1949).
- 20.—ROSSELLO, H.—J. Terapéutica y Farmacodinamia. Tomo 2. Págs. 1108. Buenos Aires. Uteha. (1945).

- 21.—MILLER, L. G., BECKER, T. J. and TAINTER, M. L.—The Quantitative Evaluation of Spasmolytic Drugs in Vitro. *J. Pharm. & Exp. Ther.* 92: 260-268 (1948).
- 22.—DAVISON, F. R.—Synopsis of Materia Medica Toxicology and Pharmacology. Págs. 309, 471. San Louis. The C. V. Mosby Co. (1944).
- 23.—WATTS, D. T.—Inhibition of Succinic Oxidase System by Meperidine, Methadon, Morfine and Codeine. *J. Pharm. & Exp. Ther.* 95: 117 (1949).
- 24.—WOLLENSBERGER, A.—Action of Narcotics and Local Anesthetics on the respiration of Heart Muscle. *J. Pharm. & Exp. Ther.* 94: 94, 444, 454 (1948).
- 26.—ELLIOTT, H. W., WARRENS, A. E. and JAMES, H. P.—Some effects of 1-Methyl-4-Phenyl-Ethyl-Isonipecotate (Demedone) and 6-Himetylamino 4-4-Diphenyl-3-Heptanone (Amidone) upon the Metabolism of rat brain tissue in vitro. *J. Pharm. & Exp. Ther.* 91: 98 (1947).
- 27.—BOOKER, W. M., FRENCH, D. M. and MOLANO, P. A.—Further Observations on the effects of Prolonged Thiopental (Pentothal) Anesthesia on Metabolism of Carbohydrates and of Proteins in Dogs. *J. Pharm. & Exp. Ther.* 96: 145 (1949).
- 28.—MARDONES, J.—Mecanismo de acción de los glucósidos cardíacos. *Revista Médica de Chile.* Vol. 76. Págs. 392-399. Santiago. Stanley (1948).
- 29.—MAGNUS, R.—Versuche am überlebenden Dünndarm von Säugetieren. I *Mitt. Pflügers Arch. d. ges. Physiol.* 102: 123-151 (1904).
- 30.—CHEN, G., ENSOR, R. C. y CLARKE, J.—The Biological Assay of Histamine and Diphenyldramine Hydrochloride (Benadryl-Hidrocloride). *J. Pharm. & Exp. Ther.* 92: 90 (1948).
- 31.—HEMPEL, C.—Influencia de la denervación sobre el aprovechamiento de metabolitos en el tonus y velocidad de recuperación del intestino aislado de conejo. Tesis Q. Farm. Univ. de Concepción (1949).
- 32.—PARDO, P.—Estudio sobre la propiedad de Taquifilaxia de la histamina en intestino aislado de cobayo. Tesis Q. Farm. Univ. de Concepción (1949).
- 33.—SOLLMANN, T. y HANZLIK, P.—Fundamentals of Experimental Pharmacology. Pág. 134. San Francisco J. W. Stacey Inc. (1940).
- 34.—GÜNTHER, B.—Cálculo de probabilidades en biología y medicina. *Ciencia e Investigación.* 1: 407-414 (1945).
- 35.—PIZZI, M.—Los métodos estadísticos. Págs. 137-171. Santiago. Im. Univ. de Chile (1947).
- 36.—TORRES, F.—Influencia de la tiamina sobre el tonus y recuperación del intestino aislado de conejo. Tesis Q. Farm. Univ. de Concepción (1949).