

en el caso del TE, es continuo y ligmificado, mientras que en la hoja de MATE no lo es, a causa de presentarse interrumpido por las porciones del tejido celular.

Los casos citados a título de ejemplos sirven para demostrar, que deben tenerse en cuenta el mayor número de caracteres que presentan los diversos elementos histológicos de las hojas, para su mejor determinación y sobre todo, para aclarar las posibles confusiones.

— NOTAS —

Las abreviaturas utilizadas en las TABLAS de este trabajo, son fáciles de interpretar. Ejemplos:

P. c. : Pelos cónicos

P. t. bicel. : Pelos tectores bicelulares

Gl. unic. : Glándulas unicelulares

5 h. l. l. : Cinco haces libero leñosos

C. l. l. : Cordones libero leñosos

P. g. : Pelos glandulosos

C. l. l. arq. : Cordones libero leñosos arqueados

C. l. l. conc. con. : Cordones libero leñosos cóncavo convexos. Etc., etc.

Las cifras colocadas en la quinta columna de las Tablas, se refieren al número variable de células que rodean a los estomas.

Los datos consignados en la tercera columna se refieren a los histológicos diversos, que ofrecen interés para las determinaciones.

Téngase en cuenta, que para la confección de estas Tablas, solo se consignan aquellos caracteres histológicos, que hemos juzgado MAS INTERESANTES para llegar a la determinación de una hoja medicinal desconocida, siendo necesario, para afianzar-

se más en la misma, consultar en las obras de FARMACOGNOSIA o en las indicadas en la BIBLIOGRAFIA, los detalles complementarios.

Dr. JOAQUIN MAS-GUINDAL

BIBLIOGRAFIA

Schneider, A. — The Microanalysis of Powdered Vegetable Drugs. 1921. Filadelfia, 2.a edic.

Schurof, P. — Qualitative Botanisc der Analyse der Drogenpulver. 1906.

Tschirch u Oesterle — Anato. Atlas Pharmakonomie u. Nahrungsmitelkunde. Leipzig. 1900.

Zornig — Tabelle zur Mikroskopischen Bestimmung der of Drogenpulver. 1912.

Mas-Guindal, J. — Farmacografía. 1922 - 260 pág.

Los tricomas (pelos en las estructuras vegetales histológicas. (Bol. de F. Militar. 1936. N° 158)

Los estomas en la estructura histológica (id. id. N° 163)

El oxalato cálcico en las estructuras histológicas (Tribuna Farmacéutica. Brasil. Curitiba. 1940 N° 3)

Palomas, J. — Los epidermos y la red neural en histoquímica de la hoja. 1933.

Gómez del Fresno, F. — Aparato secretor de las plantas. (Tesis)

Greenich y Collin — Anatomical Atlas of Vegetable Powder. 1904.

Mansfield — Histology of Medicinal Plant. 1916.

Hager y Metz — El microscopio y sus aplicaciones. 1922

Rivas Goday, S. — La estructura de la epidermis del envés, en el reconocimiento de las hojas. (Bolet. de Farmacia Militar. 1932. N° 116)

Contribución al Estudio del Digitoxósido en la Digital Cultivada en el País

Trabajo de Tesis, para Optar a la Agregación, por JOSE G. COSTA — Químico Farmacéutico

Profesor Agregado de Materia Farmacéutica
en la Facultad de Química y Farmacia

S U M A R I O

1. Cultivo y procedencia de la planta.
2. Recolección del material y estudio histológico.
3. Método bioquímico de Bourquelot.
4. Técnica de Bridel.

5. Resultados.
6. Reacciones químicas.
7. Extracción de heterósido (Adaptación del método del Codex de 1884).
8. Ensayo fisiológico, según datos de la Farmacopea de los Estados Unidos de América, y siguiendo

la técnica de Hatcher Magnus.

9. Conclusiones.

10. Bibliografía.

CULTIVO DE LA PLANTA

Estas hojas fueron remitidas por el Ingeniero Agrónomo A. Canel, del Instituto Fitotécnico de la Estanzuela, en el Departamento de Colonia, obtenidas en la forma que se indica más adelante, y procedentes del cultivo experimental de esa droga, que realiza, con fines de adaptación, esa repartición científica oficial.

Los cultivos se hacen por canteros, con tierras abonadas especialmente, con exposición abundante al sol, y tratando de reunir el máximo de condiciones que deba reunir este cultivo, para la obtención de una planta activa.

La droga fué recogida a los dos años de vida.

En cuanto a la procedencia de las semillas empleadas, carezco de mayores datos. Lo mismo podría decir, en lo que respecta a las condiciones de siembra.

RECOLECCION DEL MATERIAL

La planta fué recolectada en primavera (mes de octubre), siendo cortada de mañana temprano, por su base, y acondicionada en una bolsa de papel celofán, teniendo la precaución de regarla con agua fresca de un vaporizador, a fin de que conservara su frescura, y no se desecase durante el viaje. Dicha bolsa me fué remitida por la tarde, habiendo hecho la estabilización de la droga como se dirá más adelante, operando exclusivamente con las hojas.

ESTUDIO HISTOLÓGICO

Se operó sobre el polvo seco de la droga, que se colocó en un matracito Erlenmeyer con líquido Carrel, dejándolo 24 horas, destapando el matraz, cubriéndole la boca con una gasita, tirando el líquido, y sustituyéndolo por nuevo, dejando el todo por otras 24 horas.

En esas condiciones, el polvo se decolora casi totalmente, y es fácil apreciar todos los elementos.

A fin de facilitar la refringencia del medio, uso el líquido de observación: cloral, glicerina, agua; según la fórmula preconizada por los textos de Micrografía. Se observaron los siguientes elementos:

Células epidérmicas de paredes sinuosas con estomas chicos, pelos tectores de dos clases: largos, cónicos y uniseriados compuestos de 2, 3 y 5 células de paredes delgadas y frecuentemente estranguladas de trecho en trecho; pelos glandulosos unicelulares con una glándula uni, o generalmente bicelular, y pelos pluricelulares sosteniendo una glándula unicelular. Además se observaron células epidérmicas

surcadas con grandes nervaduras.

El polvo carece de fibras, cristales de oxalato de calcio y granos de almidón.

En lo que respecta al estudio del corte de la hoja, es idéntica a la descrita en los libros, teniendo como carácter importante el tener pelos en las dos epidermis.

METODO BIOQUIMICO DE BOURQUELOT

Antes de iniciar la marcha indicada por el autor, debo indicar el método seguido en la preparación de los reactivos que se usaron, y su comprobación.

Dichos reactivos son:

Macerado de levadura de cerveza, privado de alcoholasa.

Emulsina pura.

Soluciones de sulfato de cobre, sal de Seignette, sulfato férrico y permanganato de potasio, para método de Bertrand.

Aparato empleado: polarímetro de precisión del aula de Materia.

Macerado de Levadura de Cerveza. Empleé la levadura de baja fermentación, fresca, que lavé varias veces con agua para sacarle las impurezas gruesas, filtrando luego a la trompa. El residuo fué colocado en un mortero y tratado varias veces con alcohol rectificado a fin de fijar a la alcoholasa sobre la pared de la célula e impedirle actuar ulteriormente. Luego lavé con una mezcla alcohol-eter, dejando secar a la intemperie, y más tarde en el desecador.

Preparado así este reactivo, comprobé su actividad en la siguiente forma: en un matracito coloco una pequeña cantidad de azúcar candé que disuelvo con un poco de agua destilada; una parte de este líquido es probado al de Fehling como que no lo reduce, y sobre la otra echo una pizca de la levadura preparada como se ha indicado. Dejo el todo por un cuarto de hora en reposo, y pruebo de nuevo al líquido de Fehling. A pesar de que se opera a la temperatura usual del Laboratorio (16 a 20 grados) la transformación de la sacarosa en glucosa y levulosa es casi total, y el líquido es reducido intensamente.

Emulsión Pura. Se empleó el producto puro que posee el Laboratorio del Aula, y también repetí el ensayo con una emulsina preparada por los estudiantes, siguiendo la técnica general de preparación de fermentos. Con ambas hice la comprobación de su actividad, empleando una solución de amígdalina pura, comprobando el desdoblamiento empleando el polarímetro, y también el líquido de Fehling.

Soluciones para Método de Bertrand. Fueron preparadas según fórmulas e indicaciones de Denigés en su tratado de Análisis.

Método Bioquímico. Comienzo por preparar una solución extractiva del vegetal, tratando al mismo tiempo de estabilizarlo, impidiendo la acción de los fermentos. Procedo así:

Con una tijera corto en pequeños trocitos a las hojas y dividí al vegetal en dos partes: una que emplearé inmediatamente, y la otra que pongo a secar a la sombra y en lugar fresco.

Peso la primera parte (dos kilos), y pongo mientras unos seis litros de alcohol rectificado, repartidos en dos grandes matraces, a hervir en dos baños de maría; les agrego a ambos una pizca de carbonato de calcio, y les voy echando a cada uno un kilo del vegetal, por pequeñas porciones, y cuidando de que no cese el hervor. En estas condiciones mueren por coagulación todos los fermentos que pudieran contener las hojas, y neutralizo los ácidos que se encontrarán en el medio, que podrían provocarme un desdoblamiento prematuro de los heterósidos.

Dejo enfriar, y paso el todo de los dos matraces por un paño limpio tratando el marco por nuevas porciones de alcohol, hasta que los líquidos extractivos salgan casi incoloros. Luego se arma un aparato de destilación al vacío igual al de Stass-Otto, empleado en Toxicología, y se destila el líquido extractivo casi hasta sequedad. Ese residuo fué tratado con agua timolada (agua saturada con timol y filtrada) y pasado por filtro de papel a un matraz aforado de 500 c.c.. En estas condiciones se tiene una solución extractiva en medio acuoso, perfectamente conservable, y con la siguiente equivalencia: 1 c.c. de liq. extrac. — 4 grs. de vegetal fresco.

Observación Directa del Líquido Extractivo. En un mortero se echa un poco de negro animal, y se le adicionan unos 25 c.c. del líquido en cuestión; se mezcla bien el todo con la mano del mortero, y se pasa por un filtro plegado bien pequeño, recogiendo el filtrado cuando hubo pasado bien incoloro. Como el líquido era perfectamente límpido no tuve necesidad de hacer uso de defecantes (sub acetato de plomo líquido) pues para ser observada toda solución al polarímetro debe reunir dos condiciones esenciales: que sea incolora, o poco menos, y que sea límpida; si no se llenara la primera condición el campo se verá con dificultad, y si tuviera corpúsculos en suspensión se producirá difracción de los rayos luminosos y el campo aparecerá con halos.

Observada la solución anterior en tubo de 20 c.c., hice cuatro lecturas, sacando una media proporcional:

Dextrógira	1.58	
"	1.69	
"	1.70	
"	1.37	Media 1.585

Con esta misma solución hago un ensayo siguiendo el método de Bertrand: obtuve una cantidad de azúcares reductores de 0.072 gr. por cada 100 c.c. de líquido extractivo.

Tratamiento con la Levadura de Cerveza. En un matraz de Erlenmeyer de 250 c.c. coloco otros 25 c.c. de líquido extractivo y le agrego medio gramo de la levadura de cerveza preparada según se ha dicho y se deja el todo en reposo a la temperatura del Laboratorio por 48 horas; al cabo de ese tiempo se trata con carbón animal en un mortero, se filtra, y el filtrado que era bien límpido, fué observado en tubo de 20 c.c. al polarímetro. Se hicieron cuatro lecturas, y se sacó una media proporcional:

Dextrógira	1.26	
"	1.85	
"	1.80	
"	1.37	Media 1.570

Como puede apreciarse, la diferencia de observaciones afecta a los centésimos de grado, por lo que puede despreciarse. Esto es corroborado al controlar ese dato con el método químico de Bertrand, cuyo resultado es: azúcares reductores por cada 100 c.c.: 0,072 gr.

Tratamiento con la Emulsina. En otro matraz de Erlenmeyer se repite la misma operación anterior: 25 c.c. de líquido extractivo con (1) medio gramo de emulsina, dejar 48 horas en reposo, decolorar, filtrar, etc., y se observa en tubo de 20 c.c.

Hechas 4 observaciones, y sacada la media proporcional, se obtuvo: desviación dextrógira: 1.580.

En consecuencia, tanto la levadura de cerveza como la emulsina, no produjeron modificación en el plano de polarización de la luz, ni modificaron tampoco la cantidad de azúcares reductores según se comprobó por el Bertrand. El método de Bertrand después de actuar la emulsina, nos daba la misma cantidad de azúcares reductores.

En consecuencia, podemos llegar a la conclusión de que: no hay holósidos desdoblables por la invertina, ni heterósidos desdoblables por la emulsina.

Pero no podemos concluir de estos resultados que el vegetal carezca en absoluto de heterósidos, pues de acuerdo con los trabajos de desdoblamiento o de síntesis de Bourquelot sobre estos compuestos sabemos que el desdoblamiento de los heterósidos

(1) Tratado por la levadura como anteriormente, y hervido luego.

por fermentos. depende por regla general de la simetría que afecten los elementos de la osa que entra en la constitución del heterósido. Se ha establecido, aunque con algunas excepciones, que todos los heterósidos derivados de la forma alfa de la glucosa son susceptibles de ser desdoblados por la levadura de cerveza, y que los derivados de la forma beta de la glucosa son susceptibles de ser desdoblados por la emulsina. La digitoxina es un derivado de la forma alfa de la digitoxosa, y en consecuencia tendría que haber sido desdoblado por la levadura de cerveza. Y no lo es. Por eso dije que había excepciones, y para tener certeza en una investigación de digitoxina (o digitoxósido) es necesario recurrir a otro agente hidrolizante, que sea, si fuera posible, específico de ese heterósido.

Es estudiando estas cuestiones, que llegó Bridel, uno de los discípulos de Bourquelot, a preconizar su método de hidrolizar los heterósidos, fundándose en que de acuerdo con las observaciones de las hidrólisis de los heterósidos en los vegetales vivos, estos, una vez muertos, conservan en sus tejidos fermentos específicos de esos mismos heterósidos. En consecuencia propone la utilización de polvos de esos mismos vegetales, preparados en forma adecuada.

TECNICA DE BRIDEL

Preparación del Polvo Fermentativo. En un lixiviador de vidrio, se introducen 20 gramos de polvo fino (2) del vegetal, que previamente se han humedecido con alcohol rectificado, colocando en el fondo del lixiviador un algodón humedecido con ese mismo alcohol, y escurrido.

Se acondiciona el polvo a fin de que no se formen falsas vías, se coloca encima del polvo otro algodón mojado en el alcohol y escurrido, se agrega encima una capa de arena y se cubre a ésta con alcohol, hasta que el líquido comience a salir por debajo. Se cierra entonces la llave del aparato, y se deja el todo en reposo por 24 horas. Luego se sigue lixiviando con alcohol hasta que el líquido que escurre sea incoloro.

Se quita el polvo del aparato, y se extiende en un lugar fresco y a la sombra, hasta que se seque completamente.

En esta forma está preparado el polvo fermentativo.

INVESTIGACIÓN DE LOS HETEROSIDOS POR ESTA TECNICA

Se repiten las mismas manipulaciones que se hicieron al emplear la emulsina, empleando en lugar

de este fermento, 2 gramos del polvo fermentativo, y dejándolo actuar por 15 días. El líquido a emplear ha de ser el primitivo, el que habrá sido tratado previamente por la levadura de cerveza, por si hubiera holósidos, y luego de destruida ésta por el calor, se agregarán los polvos mencionados.

Observado el líquido en experimentación, al polarímetro, dió el siguiente resultado:

Dextrógiro	0.95	
"	1.00	
"	1.00	
"	1.20	Media proporcional: 0.99

En consecuencia el plano de polarización de la luz ha sufrido una retrogradación hacia la izquierda de 0.59; lo que prueba que el polvo fermentativo ha desdoblado un heterósido, al cual le era específico.

Hechos los azúcares reductores por el Método de Bertrand me dió: 0,086 gr. para 100 c.c. de líquido extractivo, lo que prueba el aumento de azúcares reductores, por el desdoblamiento del heterósido, que les ha dado origen.

RESULTADOS

De lo que antecede se deduce que nos encontramos en presencia de heterósidos, debido a haberlo comprobado con el polvo fermentativo, cuyos fermentos son específicos de los heterósidos de la planta, pero no podemos decir si estamos en presencia de uno o de varios, pues el polvo fermentativo desdobra a todos.

Desde el punto de vista de nuestro trabajo nos interesa la investigación del digitoxósido, que podríamos identificar por su índice de reducción enzimolítico, pero, tampoco podríamos proceder así, por la misma circunstancia de que no sabemos si es uno, o una mezcla.

De manera que el único camino a seguir será el de tratar a la solución extractiva por disolventes apropiados, o técnicas individuales a cada heterósido, aislarlo, y sobre él realizar el índice de reducción enzimolítico y alguna reacción química, o biológica, de identidad.

Es lo que se realizará en los artículos siguientes.

REACCIONES QUIMICAS REACCION DE KILIANI

Es la que los textos prescriben como de identidad para el heterósido que nos ocupa.

(2) El polvo este es el dado por el vegetal que se puso a secar a la sombra.

Se realiza así:

Una pizca de digitoxósido (o residuo que se investiga) es disuelta en dos centímetros de ácido acético glacial.

Por otra parte, en un tubo de ensayo, se echan dos centímetros cúbicos de ácido sulfúrico puro, y en su seno se arroja un cristal de sulfato férrico, y se agita para que se disuelva algo esta sal. Luego, por superposición con una pipeta, se va agregando la solución acética anterior, de manera de formar dos capas en el tubo, en la superficie de separación de las cuales aparecerá un anillo marrón, que pronto pasa al verde, y más tarde al azul indigo; después de una media hora esta coloración azul invade toda la capa acética.

En mi caso, el resultado fué negativo, habiendo sido realizado con una parte del residuo obtenido de la extracción de la digitalina por el método del Codex. (Ver el artículo siguiente).

Esta reacción de identidad de la digitalina es oficial para nuestro Codex, que la modifica algo en lo que concierne a la concentración del ácido sulfúrico, estableciendo en su Suplemento del año 20 que el ácido debe ser al 35 por ciento en lugar de ser concentrado como establecía el del año 1908. Hecha con esta modificación la reacción, me dió también negativa con el residuo en ensayo.

Los otros ensayos que trae el Codex de este producto se refieren a la solubilidad del mismo en diferentes reactivos, tales como el ácido clorhídrico oficial, ácido sulfúrico concentrado, cloroformo, etc.

Como reacción de identidad, solamente específica la primera, hecha en las condiciones que se han dicho.

EXTRACCION DE LA DIGITALINA

METODO DEL CODEX DE 1884

Si bien el Codex de 1884 establece que el digitoxósido es soluble en el alcohol de 90° y en el cloroformo, que es muy poco soluble en el agua, e insoluble en el éter, está comprobado que cuando se encuentra en el vegetal acompañado de los demás complejos orgánicos, estos facilitan su solubilidad completa en el líquido acuoso; de tal manera que es dable suponer que en el líquido extractivo se encuentre el heterósido disuelto (si es que existe en la planta) y que lo podemos separar puro empleando esa cualidad de disolverse en unos disolventes más que en otros.

Sigo para la extracción el procedimiento del Codex de 1884 en su parte de purificación de la digitalina bruta (pág. 202) y que aplico en la siguiente forma:

100 c.c. de líquido extractivo son colocados en una bola de decantación, y tratados con 30 c.c. de cloroformo, se agita, se deja decantar y se separa la capa clorofórmica, repitiendo el tratamiento por dos veces más, con igual cantidad de disolvente. Se juntan los líquidos de agotamiento y evaporan a sequedad en el baño de maría; se toma el residuo por unos 20 c.c. de cloroformo y se pasa por filtro de papel; se lava a éste por igual disolvente y se evapora el todo al baño maría, echándole al final unas gotas de alcohol para que la evaporación del cloroformo sea total. Ese residuo se disuelve con 30 c.c. de alcohol a 90°, se le agregan 5 grs. de carbón animal, se agita bien, y se deja en reposo por dos horas; se filtra, agota el carbón con unos c.c. de alcohol de 90°, y luego con unos c.c. de cloroformo. Evaporando estos disolventes a sequedad, queda un residuo casi insignificante.

Dice el Codex, que para obtener la digitalina completamente blanca, debe tomarse ese residuo con unos c.c. de alcohol a 90°, filtrar, y agregarle al líquido la mitad de su volumen de éter, y el doble de su volumen de agua, agitar, y dejar en reposo hasta el otro día "al fresco de la noche". En estas condiciones la digitalina precipita, y las materias colorantes quedan en las aguas madres. No queda más que filtrar y lavar el residuo con éter.

Yo, esta última purificación no la hice, en virtud de que el residuo citado anteriormente era casi incoloro y muy pequeño.

Las reacciones de identidad fueron hechas con él.

ENSAYO FISIOLÓGICO

Dado que en la extracción del digitoxósido no puede obtener residuo suficiente, traté de comprobar la presencia del mismo, por medios más sensibles y electivos que los reactivos químicos: el ensayo fisiológico.

Lugar de la experiencia: Instituto de Fisiología de la Facultad de Medicina.

Colaboración: con el Sr. Subdirector del mismo, Dr. Bennati, quien dirige las experiencias.

Fundamento del ensayo: seguimos en lo que respecta al principio de la titulación y dosis, las indicadas en la Farmacopea de los Estados Unidos de América - X Revisión.

Establece la citada Farmacopea que para que una digital sea considerada medicinal, su tintura debe tener una dosis tóxica que oscile entre 0,c.c.0055 y 0,c.c.0065 por gramo de peso del animal, siendo éstos los límites mínimo y máximo respectivamente, que se toleran.

Se operará con una tintura preparada al décimo,

con la planta seca, previamente desengrasada, de la que se tomará un volumen; se evaporará al baño maría hasta $1/3$, y se llevará luego al mismo volumen con agua destilada, de manera que el grado alcohólico sea inferior a 20°; este preparado se inyecta en el saco linfático ventral de las ranas (*Rana pipiens*) de peso de 20 a 30 gramos, que se conservarán en determinadas condiciones de temperatura. Al cabo de 58 minutos se abren las ranas, se pone el corazón al descubierto, y se observa esta viscera; debe detenerse en posición sistólica al cabo de una hora. La dosis de tintura que produzca este efecto es la denominada dosis tóxica.

Nosotros no pudimos conseguir las ranas que la Farmacopea especifica, y las suplantamos por perros, operando según el método descrito por Jeanne Levy — técnica de Hatcher Magnus, — en su libro: "Essai et Dosages Biologiques des Substances Medicamenteuses", el cual es observado corrientemente en ese Instituto.

Técnica de Hatcher Magnus: operamos sobre un perro de sexo macho, que pesamos, dándonos 7 kilos 500 grs.; colocamos el animal en la mesa de contención llamada gotera de Claudio Bernard, en posición decúbito-dorsal, y se le amarra por los miembros con cuerdas; se descubre con el bisturí la vena femoral y se le inyecta solución de cloralose al 1 %, a razón de 0.12 por kilo de peso (en nuestro caso fueron 0.90 de cloralose en 90 c.c. de agua). La anestesia es rápida, y la comprobamos al cabo de un minuto, porque golpeando secamente en la gotera, el animal experimenta un sacudimiento instantáneo por reflejo. Esta anestesia dura cuatro horas, con esa dosis.

Se incide el cuello del animal con el bisturí, por corte mediano, para descubrir la tráquea, se practica traqueotomía con la tijera, y se introduce en aquella la cánula del aparato de respiración artificial; se comprueba la hematosis perfecta, por la sangre, que debe ser bien roja; si el animal se pusiera cianótico, hay que darle más aire, lo que se consigue cerrando la virola de la cánula.

Se incide luego el tórax por su línea media con el bisturí, ayudándose con la sierra en las partes óseas; se fijan los bordes de aquél, con hilos, a la gotera, de manera de poder bien ver el funcionamiento del corazón.

Previamente a esto habíamos preparado dos diluciones con el líquido extractivo, que habíamos dicho que 1 c.c. equivalía a 4 gramos de planta; la primera dilución la hicimos de manera que 1 c.c. equivaliera a 1 gramo de planta; o sea, como los extractos fluidos. La segunda, de manera que 1 c.c. equivaliera a 0 grs. 10 de planta, o sea, la equivalen-

cia de las tinturas heroicas, que se preparan al décimo.

Operando sobre esta tintura, así preparada, colocamos en una bureta de llave de vidrio 25 c.c. de ella, y anexamos a la punta un tubito de goma, que iba a una llave reguladora de paso, dejando salir líquido a razón de 3 c.c. por minuto; conseguido esto, cerramos la llave de la bureta, llenamos esta, y conectamos la punta de la llave de paso con una aguja a la vena femoral.

No queda sino abrir la llave de la bureta para que el líquido pase suavemente al animal, y, pasará todo él, en veinte minutos. Si el pasaje se obstruyera, hay que observar si no hay burbujas de aire, que es necesario expulsar.

Dicen los autores de la técnica que, operando con la infusión o con la tintura, y a dosis tóxica, el animal debe morir entre los 25 y los 35 minutos, por detención en posición sistólica del corazón.

Con nuestro caso, y a pesar de habersele inyectado 60 c.c. de líquido, el ritmo cardíaco siguió inalterable a los 35 minutos; ni siquiera hubo debilitamiento del mismo.

Operamos a continuación con la dilución tipo extracto fluido, observando a los 14 c.c. una variación en el ritmo cardíaco, y recién a los 32 c.c. se produjo la muerte del animal por intoxicación, habiendo experimentado el corazón una fibrilación cardíaca intensa, y deteniéndose finalmente en diástole.

Actualmente se realizan también estos ensayos, por comparación del producto con el efecto producido por un polvo patrón internacional, preparado en tal forma que posea una dosis mortal de 0 grs. 198 por kilo de peso del animal, llamándose a esta dosis unidad perro. Como se puede observar, la cuestión dosis difiere algo entre lo admitido por la Farmacopea de los Estados Unidos y este patrón internacional.

En resumen, las conclusiones a que se llega con esta experiencia son las siguientes:

1. Que la digital en ensayo no tenía el efecto clásico de la droga medicinal.
2. Que no sería oficial para la Farmacopea que hemos citado.

CONCLUSIONES

Del estudio realizado sobre esta droga, se desprenden las siguientes:

1. Que posee heterósidos, según lo demostramos al hacer el método bioquímico de Bourquelot, técnica de Bridel, heterósidos susceptibles de desdoblarse por la acción hidrolizante del polvo fermentativo, preparado con el mismo vegetal, y que podrán ser uno o varios.

2. Que las reacciones químicas para investigar el digitoxósido resultaron negativas.

3. Que la extracción del digitoxósido nos dió también resultados negativos, a pesar de haber seguido el procedimiento oficial de nuestra Farmacopea, adaptado se comprende a nuestro caso.

4. Que interesando a la orientación de este trabajo saber, más que nada, si la droga era farmacodinámicamente activa o no, pues es por esta circunstancia que se emplea, fué realizado el ensayo fisiológico, comprobándose que el extracto de la digital en ensayo no producía, ni por la dosis, ni por el efecto, tan clásico de la droga medicinal, la muerte del animal por detención del corazón en sistole cardíaca. Por lo tanto, no se ajusta a las indicaciones de la Farmacopea de los Estados Unidos de América, que a pesar de hacer el ensayo con otros animales distintos a los empleados por nosotros, el efecto es siempre el mismo en todas las especies, pues las dosis son proporcionales con el peso de cada animal.

5. Que todo lo dicho corrobora lo establecido por diversos autores, y preconizado por nuestro Códex en su edición de 1884, que recomienda el uso de la droga que crece en los Vosgos al estado espontáneo debiendo influir grandemente las condiciones del medio sobre la presencia de los principios activos, y teniendo que ajustarse especialmente las

condiciones agronómicas de desarrollo de la planta, a la de la planta salvaje, para obtener un droga medicinal activa.

BIBLIOGRAFIA

- Zunz. *Pharmacodynamie*.
 Wattiez y Sternon. *Traité de Pharmacologie*.
 Pizon. *Traité de Matière Médicale*.
 Herail. *Traité de Matière Médicale*.
 Mansfield. *Microscopic Pharmacognosy*.
 Deniker et Cauvet. *Atlas Manuel de Botanique*
Bulletin de Sciences Pharmacologiques. Mai 1933.
 Action du chloroforme et de l'éther sur les glucides.
 Farmacopea de los Estados Unidos de América.
 X Revisión.
 Farmacopea Española. Edición de 1930.
 Farmacopea Francesa. Edición de 1884 y 1908.
 Journal de Pharmacie et Chimie. 1904. Trabajos de Bourquelot.
 Moeller. Guía para ensayos micro-farmacognósticos.
 Reuter de Rosemont. *Traité de Matière Médicale*.
 J. Levy. *Essais et dosages biologiques des substances médicamenteuses*.

Montevideo, Marzo 31 de 1938