

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

ACCION HIPOGLICEMIANTE DEL MONOOLEATO
DE POLIOXIETILEN (20) SORBITAN (POLISORBATO 80)

T E S I S

Que para obtener el título de:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

p r e s e n t a

MARTHA

MEDINA

JIMENEZ

1970

PROFESOR



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

PRESIDENTE	Prof. FRANCISCO GIRAL GONZALEZ
VOCAL	Prof. JUAN JOSE MANDOKI W.
SECRETARIO	Prof. ANA LUCIA VALERO I.
1er. SUPLENTE	Prof. Ma. LUISA GARCIA PADILLA
2do. SUPLENTE	Prof. SOCORRO SALAS TAVARES

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA

SUSTENTANTE	MARTHA MEDINA JIMENEZ
ASESOR DEL TEMA	JUAN JOSE MANDOKI W.
SUPERVISOR TECNICO	JORGE M. PEON D.

A LA MEMORIA DE

MI PADRE

Con inmenso cariño

A MI MADRE

A MIS HERMANOS

AL DR. J. J. MANDOKI, DR. J. M.
PEON Y DR. R. CHORNE POR SU VA-
LIOSA DIRECCION, COLABORACION Y
AYUDA.

A MIS AMIGOS Y
COMPAÑEROS.

CAPITULOS

I. INTRODUCCION

II. MATERIAL Y METODO

III. RESULTADOS

IV. RESUMEN

V. CONCLUSIONES

VI. REFERENCIAS

INTRODUCCION

El Polisorbato 80, así como otros ésteres de polioxi-etilen-sorbitan, se usan como emulsificantes, agentes de dispersión, humectantes y antiendurecedores en la preparación de un gran número de alimentos, tales como: pan, chocolate, dulces, helados, etc., y en productos farmacéuticos como por ejemplo: en la preparación de sueros, vitaminas liposolubles: A, D, E, K; hormonas, fenobarbital, etc.

Se han hecho estudios sobre el Polisorbato 80 administrado por vía oral y no se han observado efectos tóxicos como resultado de su administración crónica a animales de laboratorio (2,3,4,5,6,8,9,10,11,12,13,14,15, 17,18,19,20).

Un compuesto similar, el Polisorbato 60, que es monoestearato de polioxi-etileno y sorbitan, se ha demostrado que produce papilomas y algunos carcinomas cuando se aplica a la piel de ratones o sarcomas cuando se inyecta subcutáneamente en ratas. Además, esta sustancia es un "agente promotor" activo cuando se aplica a la piel de ratones tratados previamente con una única dosis sublinial de hidrocarburos aromáticos policíclicos cancerígenos. Parece ser que no existen pruebas de que sea cancerígeno cuando se administra por vía oral pero lo es cuando se le administra por otras vías (16).

En el Depto de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de México, al estar haciendo estudios sobre agentes antidiabéticos se utilizó el Polisorbato 80 como un agente de dispersión de los mismos, y se observó cierta acción del Polisorbato 80 administrado por vía subcutánea sobre la glicemia. Para corroborar lo anterior se hizo la presente tesis y se pudo comprobar que dicha sustancia administrada por vía subcutánea es capaz de producir disminución en la concentración de glucosa sanguínea.

MATERIAL.-

- 1.- Se emplearon ratones machos, adultos, albinos, provenientes de la colonia del Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la U.N.A.M. de la cepa original CF₁. Con peso corporal entre 22 y 26 gramos.
- 2.- Aguja hipodérmica, número 22 con bisel regular.
- 3.- Jeringas de tuberculina.
- 4.- Pipetas de 0.02 ml de tipo JANLI - S (Accupette) con error de 2%.
- 5.- Pipetas Pyrex de 1 ml, 5 ml y 10 ml.
- 6.- Tubos de ensayo, Pyrex.
- 7.- Tubos de rolin - Wu, Pyrex.
- 8.- Un Fotocolorímetro Carl - Zeiss, modelo ELKO III con filtro S 55 E, - lámpara de wolframio y cubas de vidrio de 4 ml de capacidad.
- 9.- Polisorbato 80 (Tween 80).
- 10.- Sulfato de Zinc.- (0.06N). 17.25 g de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, se llevan a 2000 ml de agua destilada.
- 11.- Hidróxido de Bario (0.06N). 18.9 g de $Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$, se llevan a 2000 ml de agua destilada. Después de preparada esta solución se procede a la titulación de sulfato de zinc de la siguiente manera: se toman 5 ml de la solución de sulfato de zinc, se lleva a un matraz Erlenmeyer y se le agrega una gota de solución indicadora de fenoftaleína. Se le adiciona la solución de nitrato de bario mediante una pipeta hasta tener una coloración rosa pálido. Si es necesario se deben de ajustar estas soluciones.
- 12.- Reactivo de Coors.- 12 g de Na_2CO_3 , y 5 g de sal de Rochelle (Tartrato de sodio y potasio) se disuelven en 100 ml de agua destilada. Se agrega 8 g de bicarbonato de sodio, se agita hasta disolver. Se añaden 40 ml de sulfato de cobre al 5% y se mezcla perfectamente, esta solución se afiora con agua destilada a 500 ml.
- 13.- Reactivo de Arsenomolibdato.- 50 g de molibdato de amonio se disuelven en 400 ml de agua destilada y se añaden 42 ml de ácido sulfúrico concentrado, lentamente y agitando. A continuación se agregan 6 g de arseniato de sodio previamente disueltos en 50 ml de agua destilada, se agita y se lleva a 37°C por 24 horas (?).
- 14.- Soluciones patrones de Glucosa.- Se preparan soluciones que contienen 50 mg, 100 mg, 200 mg, 400 mg, 600 mg, en 100 ml de agua destilada.

METODO.-

Los animales se pesaron y marcaron de acuerdo con la clave del laboratorio. Posteriormente se distribuyeron en dos grupos siguiendo un procedimiento que distribuye homogéneamente según su peso a los animales. Se pesaron diariamente los ratones durante el período de tratamiento. La administración de una dosis de Polisorbato 80 de acuerdo a su peso corporal se llevó a cabo mediante una inyección por vía subcutánea con intervalos de 24 horas. Posteriormente se procedió a medir su efecto sobre la glicemia. La toma de la muestra se llevó a cabo en forma ciega para evitar predisposiciones en el experimento. La determinación de la glicemia se llevó a cabo siguiendo la Técnica de Nelson-Somogy y que a continuación se describe.

La toma de la muestra se hizo después de un corte en el extremo distal de la cola del ratón, mediante una pipeta de hemoglobina de 0.02 ml de capacidad. Se lleva la muestra a un tubo de ensaye que contiene un volumen de 0.5 ml de agua destilada. Se le añade después 0.5 ml de sulfato de zinc y se mezcla e inmediatamente después se le añade 0.5 ml de hidróxido de bario y se mezcla. A continuación se procede a centrifugar durante 15 minutos para separar las proteínas y se toma una alícuota del sobrenadante de 1 ml, a la cual se le agrega 1 ml de reactivo de cobre y se agita perfectamente. Se calienta a baño de agua hirviendo durante 15 minutos. Se enfría a temperatura ambiente (mediante el chorro de agua de la llave) y se agrega 1 ml de reactivo de arsenomolibdato, se mezcla perfectamente. Se deja reposar durante 15 minutos y se procede a leer en el fotocolorímetro.

Los resultados se expresan en su promedio aritmético $\pm$ error tipo de la media. Para comparar la varianza del grupo tratado con el grupo testigo se hizo la prueba de F. Para comparar los promedios se aplicó la prueba de t de Student-Fisher, ya que las varianzas de los grupos resultaron ser siempre homogéneas (1).

RESULTADOS.-

EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DE POLISORBATO 80 DURANTE DOS DIAS.-

- A.- En el primer experimento, cuyos resultados se muestran en la Tabla I, se administró 1 ml/Kg/día de Polisorbato 80 durante dos días. - Se determinó la glicemia 24 horas después de la última inyección. Los grupos testigo y tratado constaron de 27 y 30 animales respectivamente. Se observó una reducción de 14% en la glicemia del grupo que recibió Polisorbato 80 comparado con el grupo testigo. Esta diferencia resultó ser estadísticamente significativa ($P < 0.01$).
- B.- En el siguiente experimento, cuyos resultados figuran en la Tabla II, se disminuyó la dosis de Polisorbato 80 a 0.5 ml/Kg/día, empleando el mismo tiempo de administración que en el experimento anterior (2 días). Se determinó la glicemia 48 horas después de la última inyección. Los grupos testigo y tratado constaron de 46 y - 42 animales respectivamente. Los resultados aunque muestran una reducción de un 12% en la glicemia de los ratones que recibieron Polisorbato 80 en relación con el grupo testigo, esta disminución no llegó a ser estadísticamente significativa ($P > 0.2$).
- C.- En el tercer experimento (Tabla III), la dosis empleada de Polisorbato 80 fue de 1.0 ml/Kg/día durante dos días. La determinación de la glicemia se llevó a cabo 72 horas después de la última inyección. Los dos grupos de animales fueron de 37 y 35 animales respectivamente para el grupo testigo y para el grupo tratado con Polisorbato 80. Se observó un aumento de 8% en la glicemia del grupo - que recibió Polisorbato 80 comparado con el grupo testigo. Este aumento no resultó estadísticamente significativo ($P > 0.4$).

EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DE POLISORBATO 80 DURANTE TRES DIAS.-

- A.- en el siguiente experimento (Tabla IV), la administración de Polisorbato 80 se llevó a cabo durante tres días, siendo la dosis de 0.5 ml/kg/día. La glicemia se determinó 24 horas después de la última inyección. Los dos grupos constaron de 25 y 24 animales para el grupo testigo y para el grupo tratado con Polisorbato 80 respectivamente. Se obtuvo una disminución del 10% en la glicemia de los ratones tratados con Polisorbato 80 en comparación con el grupo - testigo, esta disminución no llega a ser estadísticamente significativa ($P > 0.2$).

B.- En el quinto experimento (Tabla V), la dosis empleada de Polisorbato 80 fue de 0.5 ml/Kg/día, durante tres días. La determinación de la glicemia se llevó a cabo 48 horas después de la última inyección. Los dos grupos testigo y tratado constaron de 20 y 18 animales respectivamente. Se puede apreciar una disminución de 20% en la glicemia del grupo tratado con Polisorbato 80 en relación con el grupo testigo, siendo esta disminución estadísticamente significativa ($P < 0.02$).

EFECCIO DE LA ADMINISTRACION DE POLISORBATO 80 DURANTE CINCO DIAS.-

A.- En el sexto experimento (Tabla VI), la dosis empleada de Polisorbato 80 fue de 0.5 ml/Kg/día, durante 5 días. La determinación de la glicemia se llevó a cabo 24 horas después de la última inyección. Los dos grupos testigo y tratado constaron de 7 animales cada uno. Los resultados aunque muestran una reducción de 28% en la glicemia del grupo que recibió Polisorbato 80 en relación con el grupo testigo, esta disminución no llegó a ser estadísticamente significativa ($P > 0.2$).

EFEECTO DEL POLISORBATO 80 A LA DOSIS DE
1.0 ml/kg/día, DURANTE 2 DÍAS. GLICEMIA 24 HORAS
DESPUES DE LA ÚLTIMA INYECCIÓN .

TRATAMIENTOS	Dosis por Kg de peso corporal	η	PESO CORPO-GLICEMIA REAL PROMEDIO EN DISMINUCIÓN EN DÍAS EN mg por 100 ml de suero a 24 h.	P
Testigos sin tratamiento		27	23 ± 0.43 110 ± 4.3	
Polisorbato 80	1 ml	30	23 ± 0.50 94 ± 3.5 14	< 0.01

TABLE I

EFEECTO DEL POLISORBATO 80 A LA POSIS DE
0.5 ml/Kg día, DURANTE 2 DIAS. GLUCEMIA 48 HORAS
DESPUES DE LA ULTIMA INYECCION

TRATAMIENTOS	DOSES POR Kg DE PESO CORPORAL	η	PESO CORPO- REAL PROME- DIO EN g $\pm$ e.t.m.	GLUCEMIA PROMEDIO EN mg POR 100ml DE SANGRE 2 e.t.m.	DISMINUCION EN % O ₂	P
Testigos sin trata- miento		46	24 $\pm$ 0.70	110 $\pm$ 7.3		
Polisorbato 80	0.5 ml	42	25 $\pm$ 0.78	98 $\pm$ 6.1	12	70.2

TABLE II

EFFECTO DEL POLYSORBATO 80 A LA POSIS DE
 10 ml/kg/dia, DURANTE 2 DIAS. GLICEMIA 72 HORAS
 DESPUES DE LA ULTIMA INYECCION.

TRATAMIENTO	POSIS POR KG DE PESO CORPORAL	η	PESO CORPO- RAL PROME- DIO EN g $\pm$ e.t.m.	GLICEMIA PROMEDIO EN mg por 100 ml de sangre: tetap.	Cambio en %	P
Testigos sin trata- miento		37	25 ± 0.61	80 ± 3.8		
Polisor- bato 80	1ml	35	24 ± 0.58	86 ± 3.9	+ 8	70.4

TABLA IV

EFFECTO DEL PONSORATO 80 H LA DOSIS DE
 0.5 ml/kg/dia, DURANTE 3 DIAS. GLICEMIA 24 HORAS
 DESPUES DE LA ULTIMA INYECCION

TACTICA MEDIC- TO	Dosis por Kg de peso corporal	η	Peso corpo- ral prome- dio en g $\pm$ e.t.m	GLICEMIA promedio en mg por 100 ml de sangre a t.m	Disminucion en olo	P
Restriccion sin tratamiento		25	26 $\pm$ 0.41	96 $\pm$ 6.2		
Poliurético 80	0.5 ml	24	26 $\pm$ 1.0	86 $\pm$ 6.5	10	>0.2

TABLA IV

EFFECTO DEL POLISORBATO 80 A LA POSIS DE
 0.5 ml/Kg/día, DURANTE 3 DIAS. GLUCEMIA 48 HORAS
 DESPUES DE LA ULTIMA INYECCION

TRATAMIENTO	POSIS POR KG DE PESO CORPORAL	η	PESO CORPORAL PROMEDIO EN g $\pm$ e.t.m	GLUCEMIA PROMEDIO EN mg POR 100 ml DE SANGRE CIEN	DISMINUCION EN %	P
Testigos sin tratamiento		20	25 ± 0.80	135 ± 8.6		
Polisorbato 80	0.5 ml	18	26 ± 0.79	108 ± 5.2	20	< 0.02

TABLA V

EFFECTO DEL POLISORBATO 80 A LA DOSIS DE 0.5 ml/Kg/día, DURANTE 5 DIAS. GLICEMIA 24 HORAS DESPUES DE LA ULTIMA INYECCION

TATAMIENTO	DOSIS POR Kg DE PESO CORPORAL	η	PESO CORPO REL PROMEDIO EN DIO EN g $\pm$ e.t.m.	GLICEMIA PROMEDIO EN mg POR 100ml DE SANGRE TOTAL	Disminu- cion en %	P
Testigos sin tratamiento		7	23 $\pm$ 0.91	105 $\pm$ 16		
Polisorbato 80	0.5 ml	7	22 $\pm$ 0.92	76 $\pm$ 7.0	28	>0.2

TABLE. VI

RESUMEN.-

Se administró a ratones machos Polisorbato 80. Las dosis empleadas fueron de 0.5 y 1 ml/Kg/día y durante 2,3 y 5 días en diferentes experimentos. Las determinaciones de las glicemias se llevaron a cabo 24,48 y 72 horas después de la última inyección.

Se observó una disminución en las glicemias de los grupos que recibieron Polisorbato 80 comparados con los grupos testigo, esta disminución resultó ser estadísticamente significativa en dos experimentos, en los cuales las determinaciones de las glicemias se hicieron 24 y 48 horas después de la última inyección. En un experimento en que la determinación de la glicemia se llevó a cabo 72 horas después de la última inyección, sólo se observó un pequeño aumento no significativo en la glicemia del grupo tratado con Polisorbato 80.

Se concluye que el Polisorbato 80 administrado por vía subcutánea a ratones es capaz de producir disminución en la concentración de glucosa sanguínea.

CONCLUSIONES.-

En la presente tesis, se realizaron 6 experimentos, para estudiar la acción del Polisorbato 80 administrado por vía subcutánea sobre la glicemia del ratón, observándose en > de dichos experimentos una disminución en la glicemia del grupo que recibió Polisorbato 80 comparado con el grupo testigo, siendo esta disminución estadísticamente significativa en dos experimentos. En tres experimentos considerados aisladamente la disminución en la glicemia no llegó a ser estadísticamente significativa. En el experimento en que se observó un aumento pequeño (8%) y no significativo en la glicemia del grupo que recibió Polisorbato 80 comparado con el grupo testigo, la glicemia se determinó 72 horas después de la última inyección, tiempo en el cual el efecto hipoglicemiante del Polisorbato 80 ya había desaparecido, y la pequeña diferencia en la glicemia probablemente se debió al azar. En los experimentos en los que las glicemias de los grupos tratados con Polisorbato 80 fueron menores que las de los grupos testigo, las determinaciones de las glicemias fueron hechas 24 o 48 horas después de la última inyección.

Por lo que puede concluirse que el Polisorbato 80 tiene un efecto hipoglicemiante que puede detectarse 24 y 48 horas después de su administración.

BIBLIOGRAFIA.-

- 1.- Bennet C. A. and Franklin N.L., Statistical Analysis in Chemistry and Chemical Industry. 222-226 (Cochran & Cox) New York Wiley and Sons. Inc. (1954).
- 2.- Chusid, E. & Diamond, J. (1955) J. Pediat., 46, 222.
- 3.- Culver, P.J., Wilcox, C.S., Jones, C.M. & Rose, R.S. (1951) J. Pharmacol exp ther., 103, 377.
- 4.- Eagle, E. & Polding, C.E. (1956) Food Res., 21, 348.
- 5.- Fitzhugh, O. G., Bourke, A.R., Nelson, A.A. & Frawley, J.P. (1959) Toxicol. appl. Pharmacol., 1315.
- 6.- Hopper, S.H., Hulpieu, H.R. & Cole, V.V. (1949) J. Amer. Pharm. Ass., Sci. Ed., 38, 428.
- 7.- Katelson S., Microtechnique of Clinical Chemistry. 218-219; Charles Ingles Ed. (1965).
- 8.- Krantz, J.C., jr (1946) Informe inédito No WER-149-130/123/A/B. (Consultado en el Séptimo Informe del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios. No 281. Ginebra 1964. Págs:144-147,152-155).
- 9.- Krantz, J.C., Culver, P.J., Carr, C.J. & Jones, C.M. (1951) Bull. -- Sch, Med. Maryland, 36,48.
- 10.-Krantz, J.C., jr (1947) Informes inéditos No WER-149-164/193/235/A/B - para la Atlas Chemical Co. (Consultado en el Séptimo Informe del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios. No 281. Ginebra 1964. Págs:144-147,152-155).
- 11.-Krantz, J.C., jr (1947) Informes inéditos No WER-149-165/195/237/A/B - para la Atlas Chemical Co. (Consultado en el Séptimo Informe del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios. No 281. Ginebra 1964. Págs:144-147,152-155).
- 12.-Krantz, J.C., jr (1943) Informes inéditos No WER -149-76/160-188/A/B - para la Atlas Chemical Co. (Consultado en el Séptimo Informe del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en aditivos alimentarios. No 281. Ginebra 1964. Págs: 144-147, 152-155).
- 13.-Krantz, J.C., jr (1947) Informes inéditos No WER-149-175/190/234/A/B - para la Atlas Chemical Co. (Consultado en el Séptimo Informe del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en aditivos alimentarios. No 281. Ginebra 1964. Págs: 144-147, 152-155).

- 14.- Krantz, J.C., jr (1947) Informes inéditos No WER-149-133/161/189/233 para la Atlas Chemical Co. (Consultado en el Séptimo Informe del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios. No 281. Ginebra 1964. Págs: 144-147,152-155).
- 15.- Oser, B.L. & Oser, M. (1957) J. Nut., 61, 149.
- 16.- Dr. Sanchez F. M. toxicología de los Aditivos Alimentarios. Facultad de Medicina de Madrid 1965. Pág: 398.
- 17.- Steigman, F., Goldberg, E.M. & Schoolman, H.M. (1953) Amer. J. dig. Dis., 20, 380.
- 18.- Waldstein, S.S., Schoolman, H.M. & Popper, H. (1954) Amer. J. dig. Dis., 21,161.
- 19.- Wick, A. N. & Joseph, L. (1956) Food Res., 21, 250.
- 20.- Wick, A. N. & Joseph, L. (1953) Food Res., 18, 79.