

INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Escuela de Ciencias Químicas

- **Estudio de la Actividad Insulínica en el curso del Tratamiento con Sulfas Hipoglicemiantes**

T E S I S

Que para obtener el título de:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

p r e s e n t a :

Ma. Luisa Martha Calderón Corona



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.



M

Ciencias
Químicas

6

**ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD INSULINICA EN EL CURSO
DEL TRATAMIENTO CON SULFAS HIPOGLICEMIANTES**

MA. LUISA MARTHA CALDERON CORONA

GUADALAJARA, JAL.

1965

13301

Este trabajo de tesis fue dirigido por:

El Sr. Dr. Guillermo Farías Martínez Jefe de Lab.
de Bioquímica de la Facultad de Medicina.

La Srta. Química Farmacéutica Bióloga Josefina
de la Mora

12364

AGRADEZCO

El cariño y ayuda de mis padres
Sr. Eduardo Calderón Fuentes
Sra. Maria Luisa Corona de Calderón

C O N T E N I D O

- I.- REGULACION DE METABOLISMO DE LOS HIDRATOS DE CARBONO: INSULINA GUCAGON

- II.- GLUCOCORTICOIDES, ADRENALINA

- III.- FISIOPATOLOGIA DIABETICA

- IV.- TRATAMIENTO CON TOLBUTAMIDA

- V.- RESULTADOS OBTENIDOS

- VI.- RESUMEN Y CONCLUSIONES

- VII.- BIBLIOGRAFIA.

C A P I T U L O I.-
REGULACION DEL META--
BOLISMO DE LOS HIDRA--
TOS DE CARBONO.

INSULINA.-

La insulina es la hormona hipoglicemiante del páncreas, segregada por las células Beta de los Islotes de Langerhans, descubierta -- por Banting y Best (1922)

Está constituida químicamente por aminoácidos que forman dos -- cadenas polipeptídicas (I) de 21 y 30 aminoácidos que en dos lugares están sostenidas por puentes de azufre en forma de unión ditio (-S-S).

Su acción principal es provocar el descenso de la glucemia tan to a sujetos diabéticos (Hipoinsulinismo), como en los normales. En -- los diabéticos facilita y aumenta la velocidad de formación de glucóge no en el hígado y en el músculo, así como el consumo de glucosa por -- los tejidos y su conversión en grasa; además inhibe o disminuye la ve locidad de la formación de glucosa a partir de las proteínas (neogluco génesis), normalizándolos todos, habiendo restaurado el metabolismo hi drocarbonado, se detiene la movilización de grasa y la formación exce siva de cuerpos cetónicos que existen en el organismo diabético.

Es destruida en el tracto gastrointestinal por las enzimas --- (pepsina y tripsina) y lo que escapa a esta desintegración no es absor bido por la vía bucal, en cambio es absorbida por vía subcutánea depen diendo su absorción de la solubilidad de la insulina utilizada. Dentro del organismo es parcialmente destruida por la enzima insulinasa (2) que se encuentra en los tejidos, el resto es excretada en la orina.

No se conoce exactamente el mecanismo de acción de la insulina sobre el metabolismo de los Hidratos de Carbono, de lo que solo se han propuesto una serie de teorías, siendo las principales: (3)

1).- ACCION SOBRE LOS SISTEMAS ENZIMATICOS:

Se ha visto que para que la glucosa sea aprovechada, es necesario que sufra la fosforilación y se transforme en glucosa-6-fosfato por la Hexoquinasa ; habiendo observado Colowick y col. (1947).(4), que esta enzima es inhibida por hormonas del lóbulo anterior de la hipófisis y de la corteza suprarrenal, y que la insulina antagoniza ésta inhibición, los citados autores postulan la acción indirecta de la insulina sobre la exoquinasa que es activada acelerándose así la transformación de la glucosa.

En cuenta a ésta teoría se tienen los siguientes hechos:

- a).- Los animales hipofisectomizados y adrenaletomizados se hacen muy sensibles a la insulina.
- b).- Esta hormona es capaz de aumentar la utilización de la glucosa en el músculo aislado procedente de animales sin hipófisis ni suprarrenal (5).

2).- ACCION DE LA INSULINA SOBRE LA PERMEABILIDAD CELULAR:

En animales eviscerados en los que se estudió el nivel en la sangre y la distribución de las exosas (6), Levine y col. (1950) sostienen que la insulina promueve la utilización de la glucosa, facilitando el paso de la misma desde el líquido extracelular al interior de la célula. Esta teoría, al igual que la anterior no explica la inhibición de la formación de glucosa (especialmente la neoglucogénesis) por la insulina.

3).- ACCION SOBRE EL ADENOSINTROFOSFATO:

Stadie (1954) (7), que ha realizado experimentos in vitro para comprobarlo, la insulina interviene en el metabolismo de los Hidratos de Carbono facilitando la formación y regeneración del adenosintrifosfato (ATP) que desempeña un papel fundamental en varios pasos en el metabolismo de la glucosa. Tampoco esta teoría explica la inhibición de la gluconeogénesis, que produce la insulina.

GLUCAGON.-

Se cree que las células de los islotes de Langerhans secretan una hormona hiperglucemiante, el Glucagon que se puede aislar del páncreas y de los extractos pancreáticos (insulinas impuras) y que se ha obtenido el estado de pureza; produce ascenso de la glucemia por glucogénesis hepática (3), no muscular. El significado de ésta hormona o factor hiperglucémico - glucogenolítico en estado normal o en la diabetes todavía no se ha determinado.

C A P I T U L O II.-
GLUCOCORTICOIDES, ---
ADRENALINA.

Las hormonas secretadas por la corteza de las glándulas supra-
renales (9); se pueden clasificar en tres grupos:

- a) II-Oxicorticoides o glucocorticoides
- b) II-Desoxicorticoides o mineralocorticoides
- c) 17-Cetosteroides o esteroides androgénicos

Siendo todos esteroides, es decir que se derivan del perhidrociclopentofenantreno. Las primeras se las denomina glucocorticoides por que poseen una acción preponderante reguladora del metabolismo orgánico, especialmente de los Hidratos de Carbono; sin embargo esa denominación no es del todo acertada ya que: a) actúan no solo sobre el metabolismo de la glucosa sino también sobre el de las proteínas; b) así mismo poseen una acción reguladora sobre el metabolismo de los electrolitos, es decir que también son mineralocorticoides. Se requiere una estructura de 21 átomos de Carbono; con un oxígeno en el carbono 11 (II-Oxicorticoides) y otro en el carbono 17 (II-17-Oxicorticoides). La introducción de un halógeno en la posición 9, especialmente cloro flúor aumenta la actividad glucocorticoide pero también la mineralocorticoide con el fin de atenuar ésta última acción algunas veces no conveniente (retención de sodio), se ha modificado la estructura de la cortisona e hidrocortisona las principales hormonas, mediante la introducción de un doble enlace en las posiciones 1 y 2 aumentando así la potencia glucocorticoide de estas hormonas sin acrescentar la mineralocorticoide.

(10) Los II - Oxicorticoides y en especial los II - 17 esteroides como la cortisona y la hidrocortisona; actúan sobre el metabolismo de los Hidratos de Carbono, produciendo los segundos hiperglucemia y glucosuria con aumento de la tolerancia a la insulina; no se conoce el mecanismo de estas acciones; es posible que dichas hormonas actúen provocando la inhibición de la exoquinasa, enzima necesaria para que la glucosa sea aprovechada (fosforilación).

La acción de los glucocorticoides debe señalarse como sigue:

La HIDROCORTISONA, posee una actividad glucocorticoide de alrededor de un 50 % superior a la cortisona (II); en cuanto a la PREDNISONA y PREDNISOLONA según (12) Thorn y col, 1955, demuestran que son 4 veces más potentes que la hidrocortisona, mientras que la fludrocortisona --- (9-alfa-fluoro-17-hidroxicorticosterona) lo es 20 veces más.

ADRENALINA.-

Es, la adrenalina la hormona principal de la glándula suprarrenal, Químicamente es un alcaloide derivado del catecol; por lo cual se oxida fácilmente al aire, de fórmula:



Produce sobre el metabolismo Hidrocarbonado hiper-glucemia y a veces glucosuria (13) antagonizando la acción de la insulina. Se debe a la movilización de glucosa desde el hígado (Glucogenólisis) cuyo contenido en glucógeno es reducido, el glucógeno muscular también es reducido transformándose en ácido láctico que pasa a la sangre.

Como medida de emergencia es utilizada la adrenalina por vía -- subcutánea en los casos graves debidos a hiperinsulinismo espontáneo o por administración de dosis excesivas de insulina; debiendo siempre ser acompañada de administración de hidratos de carbono (glucosa por vía -- intravenosa y azúcar por boca), pues el efecto de la droga es transitorio.

La hipoglucemia insulínica pone en juego los mecanismos de compensación; la misma actúa directamente sobre el hígado e indirectamente a través del sistema nervioso central que, por impulsos que descienden por el esplénico actúan sobre el hígado y la médula suprarrenal produciendo descarga de adrenalina, dato provoca glucogenólisis hepática y liberación de glucosa en la sangre, atenuándose la hipoglucemia.

C A P I T U L O III.-
FISIOPATOLOGIA DIABE--
TICA (14)

La Diabetes es una afección de todas las edades; más frecuente a los 50 años interviniendo en la etiología factores de predisposición hereditaria. Es una enfermedad bastante común y se calcula que más o menos el 1 y 2 % de la población es diabética.

Los síntomas de ésta enfermedad son: poliuria (orina abundante) polidipsia (ingestión exagerada de líquidos), polifagia (ingestión exagerada de alimentos), hiperglucemia, glucosuria y adelgazamiento; siendo el síndrome más temible resultante de los trastornos metabólicos el de Acidosis y coma diabético, que puede ser mortal.

Según Wright y Col (1952) aseguran que en esta enfermedad ocurren grandes trastornos en el metabolismo de los Hidratos de Carbono, - de las proteínas, de las grasas, y el metabolismo en general.

A).- Metabolismo de los Hidratos de Carbono:

1).- La formación de Glucógeno está disminuida en el hígado sobre todo y en el músculo. Su cantidad en estos órganos es pobre y después de la administración de glucosa aumenta poco o nada en el hígado; en el músculo después de ejercicio, la restauración del glucógeno es lenta e incompleta.

2).- La utilización (oxidación) de la glucosa por los tejidos está disminuida como lo demuestra el hecho de que suministrando glucosa, se recupera cuantitativamente al día siguiente en la orina.

3).- La conversión de glucosa en grasa (ácidos grasos) es casi totalmente.

4).- La curva de tolerancia de la glucosa se mantiene alta debido a que el hígado y los tejidos no remueven la glucosa sanguínea para transformarla en glucógeno y oxidarla respectivamente.

5).- Los tubos renales tienen una capacidad limitada para reabsorber la glucosa filtrada por el glomérulo (alrededor de 300 mg/ - min), cuando dicha capacidad se sobrepasa, aparece Glucosuria. La presencia de este azúcar, por la presión osmótica que ejerce a nivel de -- los tubos renales, impide la reabsorción de cierta cantidad de agua, -- con la consiguiente Poliuria que condiciona la Polidipsia por pérdida de agua del organismo.

B).- Metabolismo de las proteínas:

1).- Los aminoácidos derivados de las proteínas sufren la desaminación a nivel del hígado y el resto no nitrogenado se transforma en su mayor parte (60%) en glucosa (neoglucogénesis). En la diabetes grave persiste la hiperglucemia y la glucosuria aún durante el ayuno prolongado, debido a que por deficiencia de insulina, existe una neoglucogénesis exagerada.

C).- Metabolismo de las grasas

1).- Cuando el depósito de glucógeno en el hígado está disminuido; este órgano metaboliza las grasas transformándolas en Cuerpos Cetónicos; y hay aumento de grasas en la sangre (hiperlipemia), debido a la movilización de las grasas desde sus depósitos al hígado.

2).- Como los tejidos no pueden utilizar con la rapidez que se producen los cuerpos cetónicos; se acumulan estos en el organismo (cetosis), ellos son: el ácido -Beta-hidroxi-butírico, ácido acetoacético - en su forma cetónica y enólica y la acetona.

3).- Por la alta concentración de cuerpos cetónicos en la sangre (hipercetonemia), pasan a la orina (cetonuria) transformándose en la vejiga el ácido acetoacético en acetona, parcialmente.

D).- Metabolismo General.

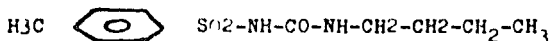
El glicerol de las grasas (un 10%) se transforma en glucosa, lo mismo que parte de las proteínas (un 60%) y la totalidad de los Hidratos de Carbono. Esta glucosa es mal aprovechada por los tejidos que derivan su energía principalmente de los cuerpos cetónicos que provienen de las grasas (90%) y proteínas (40%). Debido a este limitado aprove---

chamiento energético se produce adelgazamiento acompañado de apetito -- voraz (polifagia) y Astenia.

Es muy frecuente la presencia de lesiones arteriales en el diabetes prolongada. Se producen lesiones arterioescleróticas, a nivel de los miembros (gangrena) coronarias (infarto del miocardio), retina (ceguera) y riñón (glomeruloesclerosis que lleva a la insuficiencia renal.

C A P I T U L O IV.-
TRATAMIENTO CON TOL--
BUTAMIDA.

Es una droga de origen sintético del grupo de las sulfonamidas modificadas y es un derivado de las sulfanilurea.



La acción de ésta sulfonamida es semejante a la de la Insulina, pero presenta ciertas diferencias (15)

- a).- No promueve la acumulación de glucógeno en los músculos como la Insulina.
- b).- La hipoglucemia que produce se acompaña del aumento del glucógeno hepático a la inversa de la insulina.

Para que ésta droga ejerza su efecto es necesaria la Insulina, cuya acción es reforzada por las sulfas hipoglucemiantes (16)

La administración de, Tolbutamida en el hombre diabético por vía bucal o intravenosa, provoca descenso de la glucemia que, después de una dosis por la primera de estas vías comienza a los 30 a 60 minutos, llega al máximo a las 4 a 8 horas y termina a las 24 a 48 horas pudiendo durar varios días (17). Es oxidada a nivel del hígado y se excreta rápidamente por el riñón (un 75% en 24 h.).

Hasta el momento no se conoce el mecanismo de acción de las sulfonamidas hipoglucemiantes, habiéndose propuesto tres hipótesis (18)

1).- Estos agentes actúan sobre las células alfa del páncreas, disminuyendo la producción de glucagon; ésta teoría queda desechada por el hecho de que dichas drogas son inactivas en la diabetes aloxánica, con células alfa intactas.

2).- Las sulfonamidas hipoglucemiantes inhiben a la insulina

enzima que inactiva a la insulina.

3).- Las sulfanilureas sintéticas estimulan la actividad de las células beta del páncreas, con aumento de la secreción de la insulina.

CAPITULO V.-
RESULTADOS OBTENIDOS

MATERIAL.-

Para el presente trabajo, se tomaron un grupo de 25 diabéticos adultos, en tratamiento con hipoglicemiantes orales. De éste grupo 8 -- enfermos pertenecían al sexo masculino y 17 al sexo femenino. Las edades se encontraron comprendidas entre los 25 y los 72 años.

El tiempo de tratamiento con Hipoglicemiantes orales en los casos estaba comprendido de 2 meses a 7 años.

CUADRO No. 1

TIEMPO DE TRATAMIENTO	CANTIDAD
2 meses	1
4 meses	2
5 meses	1
6 meses	2
7 meses	1
1 año	4
2 años	2
3 años	4
6 años	5
7 años	<u>3</u>
Total	25

METODO.-

A cada paciente se le daba un tratamiento previo a la prueba de 25 a 30 días con 100 mgs. al día de Tolbutamida al cabo de los cuales -- se les practicaba una Curva de Tolerancia a la Glucosa y actividad insulínica en el plasma.

Se realizó esto en la forma siguiente:

- 1.- Extracción de 7 c.c. de sangre en ayunas.
- 2.- Ingestión de 150 grs. de glucosa.
- 3.- Extracción de 7 c.c. de sangre a las dos horas de ingerida la glucosa. Se tomó a las dos horas la muestra de sangre debido a que se ha visto que a ese tiempo se encuentran la mayor concentración de glucosa en la sangre.
- 4.- Dosificación de la glucosa a cada una de las muestras extraídas, por el método de Polin-Wu.
- 5.- Investigación de la actividad insulínica en el plasma; la cual se realiza de la siguiente manera:
 - a).- En seguida de la dosificación de glucosa, se agregan al plasma la cantidad suficiente de glucosa, de modo que se encuentren 300 mg. de glucosa por ciento.
 - b).- Se pesa 300 mg. de tejido adiposo de epidídimo de rata.
 - c).- Se pone a incubar en el aparato de Warbur, el plasma problema y el tejido adiposo por 60 minutos.
 - d).- Se extrae 0.5 c.c. del incubado inmediatamente antes de colocarlo en el aparato de Warbur; a los treinta minutos después, se extraen otros 0.5 c.c. del incubado.
 - e).- A cada una de las tres muestras obtenidas se dosifica glucosa por el método de Somogy.
 - f).- Se saca el porcentaje de consumo de glucosa y esto nos dá la actividad Insulínica en el Plasma.

Se considera como cifra normal de la A.I.P. del 20 al 30 %.

C U A D R O No. 2

Caso	Edad	Sexo	Gluc. Ayun.	Gluc. CSG.	A.I.P. Ayun	A.I.P. CSG.	Trat. SH.
1	65	M	94	214	17	27	1 año
2	49	M	370	426	15	56	1 año
3	58	M	466	510	11	4	6 años
4	53	F	232	456	55	6	2 años
5	70	M	237	508	0	4	4 meses
6	61	F	165	326	37	15	6 años
7	57	F	94	241	20	11	7 años
8	42	F	174	326	45	4	3 años
9	72	M	56	285	8	23	6 años
10	67	F	99	108	13	26	6 meses
11	58	F	99	187	11	5	3 años
12	50	F	152	468	25	20	4 años
13	56	F	192	334	26	17	3 años
14	63	F	192	218	10	13	1 año
15	49	F	187	334	30	34	1 año
16	58	M	227	225	13	26	7 años
17	38	M	75	84	5	24	5 meses
18	25	F	139	312	4	8	2 meses
19	53	M	126	214	9	23	7 meses
20	40	F	161	312	57	25	6 meses
21	49	F	272	500	3	7	3 años
22	32	F	170	365	13	0	7 años
23	68	F	343	592	9	5	4 meses
24	60	F	281	420	4	7	6 años
25	62	F	135	226	14	23	6 años

En éste cuadro se hace el resumen de cada caso estudiado.

Clave de las abreviaturas del cuadro:

Gluc. Ayun -----Glucemia en Ayunas.

Gluc. CSG. -----Glucemia con sobrecarga de Glucosa.

A.I.P. Ayun.-----Actividad Insulínica en el Plasma.

A.I.P. CSG. -----Actividad insulínica en el plasma, con sobre
carga de glucosa.

Trat. SH. ----- Tiempo de tratamiento con Sulfas Hipoglicemiantes.

Después del cuadro anterior se formaron dos grupos:

- 1).- En los que la Actividad Insulínica aumentó a la sobrecarga de glucosa.
- 2).- En los que la actividad Insulínica disminuyó a la sobrecarga de glucosa.

El primer grupo está formado por 14 casos; de es os, 7 aumentaron del 3 al 9 % la A.I.P. y 7 aumentaron del 10 al 41 % su A.I.P. en 5 de los casos del tratamiento son hipoglicemiantes orales pasaba de un año; en éstos casos las diferencias en mgs. de la primera a la segunda dosificación de glucosa eran las más altas. Dándonos por resultado un 64.3 % de los casos que tenían tratamiento de menos de un año (cuadro No. 3).

El segundo grupo está formado por 11 casos; de éstos 6 disminuyeron del 4 al 9 % la A.I.P. y el 5 del 13 al 49 % la A.I.P. En dos de los casos, el tratamiento con hipoglicemiantes orales no pasaba de un año y en ellos la diferencia en mgs. de la primera a la segunda dosificación de glucosa eran altas. Dando un resultado de 81.9 % de los casos que tenían tratamiento de más de dos años (cuadro No. 4).

C U A D R O No. 3

Caso	D M, 1, 2	A.I.P, A	A.I.P, CSG	D, A.I.P.	T T
1	120	17	27	10	1 año
2	85	15	56	41	1 año
5	271	0	4	4	4 meses
9	229	8	23	15	6 años
10	9	13	26	13	6 meses
14	26	10	13	3	1 año
15	147	30	34	4	1 año
16	27	13	26	13	7 años
17	9	5	24	19	5 meses
18	173	4	8	4	2 meses
19	88	9	23	14	7 meses

Caso	D M,1,2	A.I.P,A	A.I.P,CSG.	D,A.I.P.	T T
21	228	3	7	4	3 años
24	139	4	7	3	6 años
25	191	14	23	9	6 años

C U A D R O No. 4

Caso	D M,1,2,	A.I.P,A	A.I.P,CSG	D,A.I.P.	T T
3	42	11	4	7	6 años
4	224	55	6	49	3 años
6	161	37	15	22	6 años
7	147	20	11	9	7 años
8	152	45	4	41	3 años
11	88	11	5	6	3 años
12	316	25	20	5	4 años
13	142	26	17	9	3 años
20	151	57	25	32	6 meses
22	195	13	0	13	7 años
23	249	9	5	4	4 meses

Clave de las abreviaciones de los cuadros 3 y 4.

- D M,1,2 ----- Diferencia en miligramos de la primera y segunda dosificación de glucosa
- A.I.P,A ----- Actividad Insulínica en el Plasma en ayunas.
- A.I.P,CSG. ----- Actividad Insulínica en el Plasma son sobrecarga de glucosa.
- D,A.I.P. ----- Diferencia de las dos cifras de Actividad Insulínica en el Plasma.
- T.T. ----- Tiempo de Tratamiento.

C A P I T U L O VI.-
CONCLUSIONES.

El número de casos de que dispusimos para el trabajo es reducido para permitirnos afirmar categóricamente alguna conclusión; no obstante nos orientan a pensar que en enfermos diabéticos con tratamientos de sulfas hipoglicemiantes, por un periodo menor de un año, si existe respuesta Insulínica a la sobrecarga glicémica; en aquellos que el tratamiento se ha prolongado por más de dos años, no se observó respuesta en actividad Insulínica a la sobrecarga glicémica.

El motivo por el cual esto se produce no se sabe en la actualidad quedando ésta incógnita por resolverse en investigaciones posteriores.

B I B L I O G R A F I A .

- 1).- Ryle, A.P.; Sanger, F., Smith, L.F. and Kital, R. The disulphide bonds of insulin. *Biochem. J.*, 1955, 60, 541.
- 2).- Mirsky, I.A and Perisutti, G. The inactivation of insulin by liver slices of the rat. *Endocrinology*, 1953, 52, 698.
- 3).- Stadie, W.C. Current concepts of the action of insulin. *Physiol. Rev.*, 1954, 34, 52.
- 4).- Colowick y col. The effect of adrenal cortex and anterior pituitary extracts and insulin on the hexokinase reaction. *J. Biol. Chem.* 1947, 168, 583.
- 5).- Bille, C.A. and Hastings, A.B. The metabolism of C 14-labeled glucose by the rat diaphragm in vitro. *J. Biol. Chem.*, 1949, 179, 673.
- 6).- Levine, J. col. Action of insulin on the "permeability" of cells to free hexoses, as studied by its effect on the distribution of galactose. *Am. J. Physiol.* 1950, 16, 70.
- 7).- Stadie, W.C. Current concepts of the action of insulin. *Physiol. Rev.* 1954, 34, 52.
- 8).- De Duve, C. Glucagon The hyperglycemic glycogenolytic factor of the pancreas. *Lancet*, 1953, 2, 99.
- 9).- Hartman y col. Substance which prolongs the life of adrenalectomized cats. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 1927, 25, 69.
- 10).- Thorn y col. Pharmacological aspects of adrenocortical steroids and ACTH in man *New England J. Med.* 1953, 248, 232, 284, 323, 369, 414, 556, 632.
- 11).- Dorfman, R.I. Bioassay of steroid hormones. *Physiol. Rev.* 1954, 34, 138.
- 12).- Thorn y col. Highly potent adrenal cortical steroids: Structure and biological activity. *Ann. Int. Med.* 1955, 43, 979.
- 13).- Starr y col., 1937, 16, 799, Clinical study of the action of 10 commonly used drugs on cardiac output, work and size; on respiration, on metabolic rate and on electrocardiogram. *J. Clin. Investigation*.

- 14).- Dr. Manuel Litter; *Farmacología*. Cap. 32,666;B.
- 15).- Unger, R.H. and Davidson J.W. Current status of aryl sulfonylureas in treatment of diabetes mellitus. *J.A.M.A.*, 1956,162,447.
- 16).- Housay, B.A. y M. Liorini, R.H. Refuerzo de la acción de la insulina por las sulfonamidas hipoglucemiantes. *Rev.Soc.Argent.---* *Biol*, 1956,32,94.
- 17).- Achelis y Hardebeck, 1955, Housay y Penhos, 1956, Weldberger y Ricketts, 1956.
- 18).- Unger y Davidson, 1956.