

# Aspectos Bioquímicos y Farmacológicos de la Nialamida y su comparación con otros agentes inhibidores de la Monomino-Oxidasa (A. M. O.)

Por  
ENRIQUE NUÑEZ-OLARTE (\*)

En los últimos años ha despertado especial interés el papel que desempeña la monoamino-oxidasa en el metabolismo de la norepinefrina y de la serotonina cerebrales. El estudio de agentes capaces de inhibir la actividad de esta enzima ha facilitado un mejor conocimiento de su mecanismo de acción que permite conducir la aplicación de ellos a campos insospechados de la terapéutica, interés que se ha acrecentado desde los trabajos de ZELLER et. al (1) que demostraron el efecto inhibidor de la iproniácida (isonicotinóil- isopropil- hidracina) sobre la monoamino-oxidasa y los de BLASCHKO (2) y sus colaboradores (3); pero debemos reconocer que la real importancia de los inhibidores de M.A.O., se debe al posible papel de la 5-hidroxitriptamina (serotonina, 5HT) en la actividad fisiológica normal o anormal, especialmente en la esfera cerebral y al hecho de que la M. A. O., la destruye (4); (5); (6).

Numerosos trabajos se han publicado a propósito de estudios comparativos con diferentes inhibidores de la M.A.O., y la determinación del contenido de catecolaminas en cerebro y otros tejidos (7), y en ellos descuellan el hecho de que la nialamida (1—2) (bencil carbamil etil -2- isonicotinóil hidracina) es uno de los pocos inhibidores de M.A.O., que presentan un aumento concomitante del contenido cerebral de serotonina y norepinefrina (8). El estar trabajando sobre un inhibidor de M.A.O., de origen vegetal, el alcaloide del BANISTERIOPSIS QUITENSIS (yagé) (9) (10) nos movió a hacer un estudio comparativo con nialamida, improniácida y yageina (para algunos este alcaloide es hermalina). Los resultados que se relatan en este trabajo han sido hechos en Bo-

gotá-Colombia, a una altura 2.600 metros sobre el nivel del mar, (560 mm. Hg).

**METODOS Y MATERIALES.**- Tres experiencias hemos seguido:

- a) Medida de la actividad M. A. O. en cerebro in-vitro e in-vivo.
  - b) Estimación de serotonina y norepinefrina en cerebro de ratón, previa administración de droga inhibidora.
  - c) Respuesta hemodinámica (presión sanguínea) en perro anestesiado.
- a).- **MEDIDA DE LA ACTIVIDAD M.A.O EN CEREBRO IN-VITRO E IN-VIVO.**- La actividad de la M.A.O., la determinamos según el método descrito por BOGDANSKI et al (11). Se emplearon lotes de 6 ratones con peso promedio de 25 gramos por ratón y se hicieron 3 experiencias.

El tejido nervioso fué removido y analizado inmediatamente después de ocasionar la muerte del animal por decapitación.

Para los ensayos in-vitro, los tejidos de cada lote se homogeneizaron en homogenizador de vidrio en 7.5 partes de 0.3 M. Buffer fosfato pH 7.4; cuatro c. c., de homogenato se preincubaron con el inhibidor durante 30 minutos. Se agregó serotonina hasta una concentración final de 10 microgramas/cc. y esta mezcla volvió a incubarse por espacio de 30 minutos. Los controles usados fueron homogenatos con serotonina pero sin inhibidor. Se estimó el grado de inhibición de la M.A.O., por el porcentaje de metabolismo de la serotonina bloqueado por el inhibidor.

Para los ensayos in-vivo se aplicó una dosis intraperitoneal al ratón, y cada lote se sacrificó a diferentes tiempos después de su administración.

(\*) Profesor Jefe del Departamento de Ciencias Fisiológicas de la Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina, Laboratorio de Farmacología.

Los controles fueron lotes en blanco a los cuales no se les aplicó droga inhibidora.

- b).- ESTIMACION DE SEROTONINA Y NOREPINEFRINA EN CEREBRO DE RATON.- Cada una de las drogas inhibidoras de la M.A.O., se inyectó intraperitonealmente (i.p.) a lotes de 6 ratones. A cada lote se le ocasionó la muerte por decapitación, en diferentes tiempos, e inmediatamente se removieron los tejidos para su análisis y determinación.

*Métodos Químicos:* Las aminas fueron estimadas y fluorométricamente, utilizando el espectrofotómetro de HILGER.

La serotonina siguiendo el método preconizado por BOGDANSKI ET. AL (12) y la norepinefrina por el de SHORE Y OLIN (13).

- c).- RESPUESTA HEMODINAMICA EN PERRO ANESTESIADO.- Los efectos sobre la presión sanguínea se determinaron en perro de uno y otro sexo, con peso promedio de 10 kilos y con anestesia por medio de pentobarbital sódico aplicado por vía intraperitoneal a dosis de 35 mg| kilo.

Las drogas se administraron por vía venosa, canulando la vena femoral y conectándola a una bureta con solución salina. Los cambios de la presión sanguínea se midieron con manómetro de mercurio conectado a la arteria carótida primitiva y las inscripciones se hicieron en kimógrafo con papel ahumado. El registro de la respiración se hizo con cápsula de Marey conectada a una cánula traqueal, previa traqueotomía, y el tiempo con una marca cada 6 segundos. Todas las drogas fueron empleadas bajo la forma de solución acuosa.

**RESULTADOS: EFECTO DE LAS DROGAS SOBRE LA M.A.O CEREBRAL.**— Los efectos *in-vitro* de las drogas sobre la M.A.O., se observan en la Tabla I.

La nialamida presenta una completa inhibición de la M.A.O., en concentraciones al  $1 \times 10^{-4}$  M. y un efecto parcial al  $1 \times 10^{-5}$  M., en tanto que la yageína se presenta más activa con una inhibición completa al  $1 \times 10^{-5}$  M. y efecto parcial al  $1 \times 10^{-6}$  M. La iproniacida es menos activa *in-vitro* que las anteriores; apenas alcanza un 85% de inhibición en concentraciones de  $5 \times 10^{-4}$  M. En consecuencia la nialamida y la yageína son más potentes *in-vitro* que la iproniacida como inhibidores de la M. A. O.

## T A B L A I

Efecto *IN-VITRO* de varios inhibidores de la M.A.O. sobre el metabolismo de la serotonina en homogeínatos de cerebro de ratón

SUSTANCIAS	CONCENTRACION (Molaridad)	% INHIBICION
IPRONIACIDA	$5 \times 10^{-4}$	85
	$1 \times 10^{-3}$	20
NIALAMIDA	$1 \times 10^{-3}$	100
	$1 \times 10^{-4}$	100
	$1 \times 10^{-5}$	12
	$1 \times 10^{-6}$	
YAGEINA	$1 \times 10^{-5}$	100
	$1 \times 10^{-6}$	100
(Harmalina)	$1 \times 10^{-6}$	100
	$1 \times 10^{-7}$	75

(Los homogeínatos de cerebro usados como controles metabolizaron un 75% de la serotonina adicionada, en 30 minutos. Cada valor representa el promedio de 3 experiencias.

En la Tabla II se pueden observar los resultados obtenidos *in-vivo*. La nialamida, la yageína, y la iproniacida se muestran como inhibidores muy rápidos de la M. A. O., ya que a la media hora de administradas presen-

tan una casi total inhibición, que persiste hasta 4 días después de la administración de una sola dosis y al cabo de los cuales apenas alcanzan una fracción del valor normal de la actividad de la M. A. O.

TABLA II

Metabolismo de la serotonina por homeogenatos de cerebro de ratón tratado con una sola dosis i.p. - (Cada dato representa el promedio de tres experiencias.)

SUSTANCIA	mg/Kilo	% INHIBICION EN HORAS						
		1/2 -	- 1 -	4 -	24 -	48 -	72 - 96	
IPRONIACIDA	100	80	95	95	100	95	80	50
NIALAMIDA	25	90	95	100	100	95	95	70
YAGEINA	10	90	95	100	100	95	95	80

#### B.) ESTIMACION DE LA SEROTONINA Y LA NOREPINEFRINA EN CEREBRO DE RATON:

En la figura 1 puede verse el resultado obtenido para cada una de las aminas y con cada una de las drogas en el tejido nervioso.

Los cambios producidos en el tejido nervioso por dosis única para cada

droga son muy notorios. Desciende en primer lugar la elevación rápida del nivel de la serotonina ocasionado tanto por la yageína como por la nialamida y el franco paralelismo de su actividad, aunque para esta última sean un poco más bajas las cifras halladas. Con la iproniacida hay una elevación de la serotonina, lenta al principio, que alcanza al cabo de 6 horas casi el doble del nivel inicial.

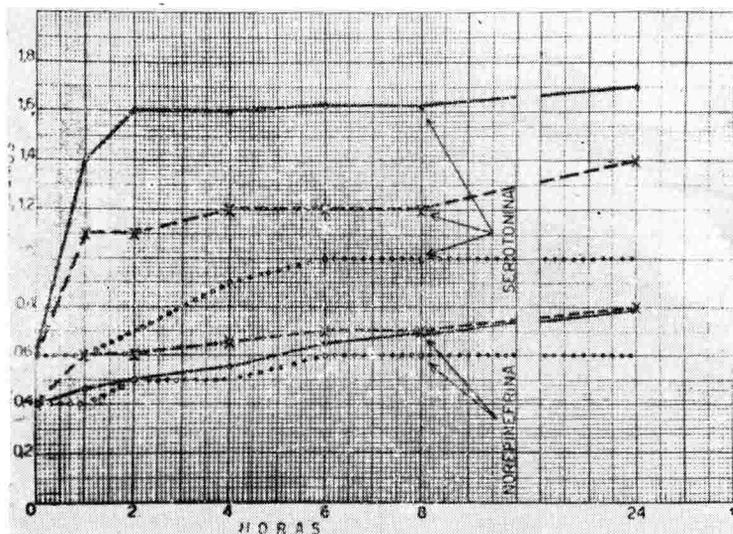


FIGURA N° 1— Aumento de los niveles de aminas en cerebro de ratón después de la administración de una sola dosis de yageína (línea continua). Nialamida (línea quebrada) e iproniacida (línea en puntos). A los animales se les inyectó una dosis de 10 mgrs/kg. de yageína, 25 mgrs/kg. de Nialamida y 100 mgrs/kg. de iproniacida. Cada dato corresponde al promedio de 3 experiencias.

Los niveles de norepinefrina se elevan con todas las drogas, pero principalmente con la nialamida, en un grado mucho menor al de la serotonina. De 6 a 8 horas después de la administración de la dosis única, se alcanza la mayor respuesta para todos los inhibidores utilizados por nosotros.

Fueron empleadas las siguientes dosis: 100 mgr/kilo para la iproniácida; 25 mgr/kilo para la nialamida y 10 mgr/kilo para la yageína, que corresponden a cantidades que no presentan ninguna manifestación o cambio de la conducta del animal, ni le ocasionan fenómenos que puedan considerarse como efectos de la anfetamina.

### C.) RESPUESTA HEMODINAMICA EN EL PERRO ANESTESIADO.

En la figura 2 vemos el trazado de la respuesta de control de la administración previa de 5 y 10 microgramos kilo de adrenalina, (epinefrina) y de 10 microgramoskilo de acetil-colina, y a continuación, la respuesta de varias dosis de nialamida i.v., que pro-

ducen una baja de la presión sanguínea arterial, que, aunque ligera, es persistente. Al administrar 5 minutos, 15 minutos y 30 minutos después dosis de adrenalina (epinefrina) y de acetil-colina igual a las del control, se observa una recuperación lenta, con amplio trazado que se hace más nítido a los 30 minutos, tanto para la epinefrina como para la acetil-colina.

Al administrar una nueva dosis de epinefrina tres horas después de la última dosis de nialamida, la curva de recuperación es mucho más pronunciada, con un trazado más amplio, la respiración se hace extraordinariamente lenta para llegar con rapidez a la apnea e iniciarse una baja tensional que alcanza O. O. mm., de Hg., a los pocos segundos. Al hacerse respiración artificial el animal poco a poco va recuperando su estado tensional y a los 15 minutos vuelve la respiración normal. Este tipo de recuperación solo se presentó con la nialamida (Fig. 3). La yageína y la iproniácida ocasionaron fenómenos similares que condujeron rápidamente a la muerte.

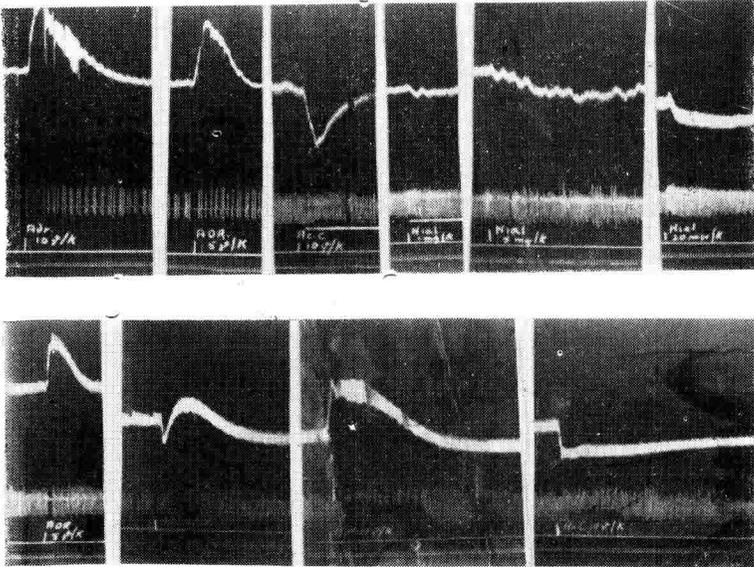


FIGURA N° 2— De arriba hacia abajo: presión sanguínea, respiración. Tiempo: cada 6 segundos. Perro anestesiado con pentobarbital sódico 35 mgrs/kg. Arriba: a la izquierda, trazado del efecto de la adrenalina y acetilcolina como controles antes de la administración de Nialamida; a la derecha efecto de la Nialamida a diferentes dosis. Abajo: administración de adrenalina 5 minutos, 15 minutos y 30 minutos después de la Nialamida y de acetil-colina, a los 45 minutos. Las drogas fueron administradas i.v. en solución acuosa.

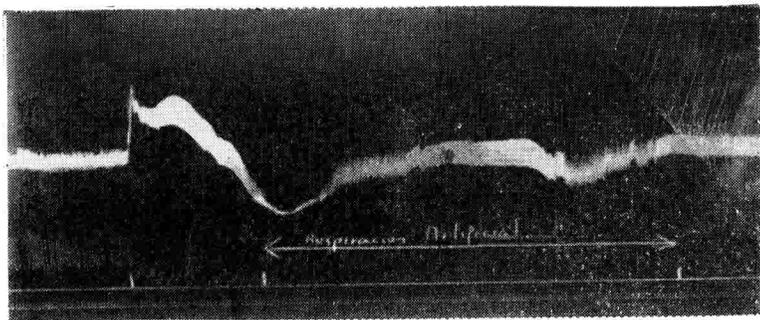


FIGURA N° 3— De arriba hacia abajo: presión sanguínea, respiración. Tiempo: cada 6 segundos. Perro anestesiado con pentobarbital sódico 35 mgrs/kg. Trazado del efecto de la adrenalina, 3 horas después de la administración de 4 dosis (100 mgrs/kilo en total) de Nialamida y recuperación del animal después de respiración artificial.

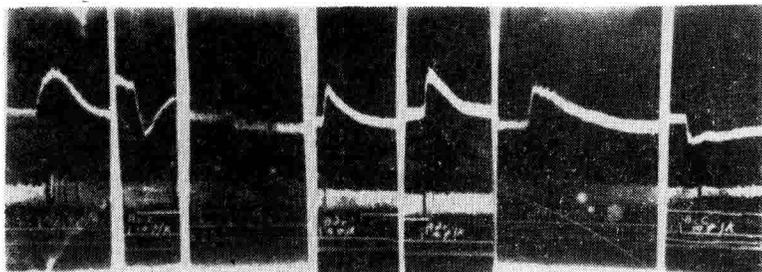


FIGURA N° 4— De arriba hacia abajo: presión sanguínea, respiración. Tiempo: cada 6 segundos. Perro anestesiado con pentobarbital sódico 35 mgrs/kilo. A la izquierda trazado del efecto de la adrenalina y de la acetil-colina, como controles antes de la administración de la iproniácida. En el centro efecto de la iproniácida. A la derecha, administración de adrenalina, 5 minutos, 15 minutos y 30 minutos después de la iproniácida y de acetil-colina, a los 45 minutos. Las drogas fueron administradas i.v. en solución acuosa.

En la figura 4 podemos notar el efecto de 5 mgr/kg. i.v. de iproniácida. La ligera baja de la presión sanguínea arterial es persistente. Antes de la administración del inhibidor se aplicaron 5 microgramos/kg. de epinefrina (adrenalina) y 3 minutos después se repitió esta administración. Las respuestas a la epinefrina son sensiblemente iguales; 15 minutos después y luego a los 30 minutos, nuevas dosis

de 5 microgramos/kg. de adrenalina (epinefrina) y 10 microgramos/kg. de acetil-colina, presentan un trazado con recuperación lenta, amplio, similar en un todo al que presenta la nialamida.

La yageína da resultados en todo similares a los de la nialamida y la iproniácida, como lo pudimos comprobar en trabajos anteriores (9) (10).

## CONCLUSIONES

Este trabajo muestra cómo la yageína y la nialamida son agentes inhibidores de la M.A.O., más potentes que la iproniácida, tanto *in-vitro* como *in-vivo*, siendo la yageína más activa que la nialamida pero presenta fenómenos de tipo anfetamina y es eminentemente tóxica, como lo mostramos en otra ocasión (9) (10). Estos inhibidores presentan efectos sostenidos que presumiblemente pueden atribuirse a una inactivación irreversible de la M. A. O., como sucede en la iproniácida, según ZELLER et., al (14) y HESS et., al (15).

Sin duda alguna estas drogas penetran a la zona cerebral y son más accesibles *in-vivo* que la iproniácida. Resultados similares fueron dados por SPECTOR et., al (16), como son los niveles de serotonina y de norepinefrina, menores para la iproniácida que para otros inhibidores de la M. A. O., y la elevación rápida de la serotonina producida por éstos en comparación con el lento aumento de la amina ocasionado por la iproniácida.

En el animal intacto el aumento de la presión sanguínea producido por la adrenalina es más prolongado y sostenido después de la administración de iproniácida, nialamida y yageína, y la caída de la presión ocasionada por la acetil-colina es más prolongada y sostenida después de la administración de iproniácida, de nialamida y de yageína. Estos fenómenos son realmente ocasionados por la inhibición de la M. A. O., y concuerdan con los resultados obtenidos al valorar el contenido de serotonina y norepinefrina en el tejido nervioso.

El examen de los resultados de las Tablas I y II y de la Figura 1, deja deducir fácilmente, que el efecto inhibidor sobre la M. A. O., es notable con la yageína (harmalina para algunos autores). Le sigue en su acción la Nialamida y por último la de la iproniácida. Aunque las dosis empleadas corresponden a cantidades incapaces de dar fenómenos secundarios molestos, motivo por el cual no se observaron alteraciones en la conducta del animal, debemos reconocer que la Nialamida ocupa en nuestro trabajo, un primer lugar como inhibidor de la M. A. O., porque a pesar de los satisfactorios resultados obtenidos con la yageína, estudios anteriores (9) (10) nos demostraron la peligrosidad que este alcaloide encierra no sólo por su gran toxicidad, sino por sus actividades alucinógenas y la franca inocuidad de la Nialamida.

Pudimos observar que los resultados obtenidos por nosotros comprueban los de CARLSSON et., al (8) y los de PISANTY et., al (17) y con ellos estamos de acuerdo que en estos trabajos preliminares no puede llegarse a una exacta interpretación fisiológica, pero son un aporte más en el intrincado y complejo problema de la M. A. O.

Al hacer un estudio comparativo con diferentes inhibidores de la M.A.O., podemos asegurar que el bloqueo de ésta en sí mismo no es necesario para causar una serie de fenómenos laterales o secundarios de tipo antagonista, (en contra de la opinión de ZELLER et., al) (18) porque debemos admitir que la obtención de nuevos productos cuya constitución química los hace más específicos, menos tóxicos, ocasionan fenómenos por inhibición de la M. A. O., libres de acciones secundarias y abren el camino de la terapéutica, no sólo dentro del campo neuro-psiquiátrico sino en todos aquellos territorios que se regulan principalmente por la actividad enzimática.

**RECONOCIMIENTO:** El autor agradece la colaboración prestada por el doctor A. Otálora, Profesor de Análisis Instrumental en la Facultad de Farmacia; y en la Facultad de Medicina, al doctor Edgar Triana, Preparador de Fisiología y Farmacología; a la señorita Bertha Bazarro, Técnica de Ciencias Fisiológicas; a la señorita Graciela Rodríguez, Preparadora de Farmacología. A la Casa Pfizer por la donación de Nialamida (NIAMID\*) y a la Casa Roche por la iproniácida (MARSILID\*).

## RESUMEN

En este trabajo se muestra la acción inhibidora sobre la Monoaminooxidasa (M.A.O.) ocasionada por la yageína (harmalina), la nialamida y la iproniácida, tanto *in-vitro* como *in-vivo*. Se ha valorado, en cerebro de ratón, el contenido de serotonina y de norepinefrina después de la administración de estas drogas y se midió la actividad de la M.A.O.

Las aminas fueron estimadas fluorométricamente y los resultados obtenidos muestran niveles aumentados de serotonina y de norepinefrina en primer lugar, con yageína, en segundo lugar con nialamida y en tercer lugar con iproniácida.

## BIBLIOGRAFIA

1. ZELLER, E. A.; BARSKY, J.; FOUST, J. R.; KIRCHHEIMER, W. F., and VAN ORDEN, L. S. *Experiencia* 8: 349, 1952.
2. BLASCHKO, H.: *Pharmacol. Rev.*, 4: 415, 1952.
3. BLASCHKO, H., RICHTER, D. y SCHLOSSMANN, H.: *Biochem. J.* 31: 2187, 1937.
4. WOOLLEY, D. W. y SHAW, E.: *Proc. nat. acad. Sci., Wash.* 40: 228, 1954.
5. BRODIE B. B., PLETSCHER, A. y SHORE, P. A.: *Science* 122: 969, 1955.
6. UDENFRIEND, S. WEISSBACH, H. y BOGDANSKI D. F. *J. Neurochem.* 1.: 271, 1957.
7. ROWE, R. P.: *A. pharmacologic. Summary of nialamide, Dis Nerv. Sys.* 20: Supplement 5, 1959.
8. CARLSSON, A., LINDQVIST, M. y MAGNUSSON, T.: *Simposio Internacional de Nialamida-Jorn da Soc das Cien Med de Lisboa. CXXIII. Suplemento*: 96, 1959.
9. NUNEZ-OLARTE, E., CONSTAIN, C., ROSAS, F. y THEILKHUL, J. *Rev. Fac. Med. U. N., Bogotá*: 27, 190-1959.
10. NUNEZ-OLARTE, E., CONSTAIN, C. *Rev. Fac. Med. U. N. Bogotá: En prensa.*
11. BOGDANSKY, D. F., WEISSBACH, H. y UDENFRIEND, S. J. *Neurochem.* 1: 272, 1957.
12. BOGDANSKI, D. F., PLETSCHER, A., BRODIE, B. B. y UDENFRIEND, S. J. *Pharmacol. and Exper Therap.* 117: 82, 1956.
13. SHORE, P. A. y OLIN, J. S. J. *Pharmacol. and Exper Therap.* 122: 295, 1958.
14. ZELLER, E. A., BARSKY, J. y BERMAN, E. R.- *J. Biol Chem* 214. 267, 1955.
15. HESS, S., WEISSBACH, H., REDFIELD, B. G., y UDENFRIEND, S. SHORE, P. A., BRODIE, B. B. J. *Pharmacol. and Exper Therap.*, 124: 189, 1958.- *Therap.* 128: 15, 1960.
16. SPECTOR, S., SHORE, P. A., BRODIE, B. B.- *J. Pharmacol. and Exper Therap.* 128: 15, 1960.
17. PISANTY, J., PIÑEIRO, A., MOREIRA, R. y TODD, L. E. *Simposio Internacional de Nialamida-Jorn da Soc. das Cien Med. de Lisboa -CXXIII- Suplemento*: 99, 1959.
18. ZELLER, P., PLETSCHER, A., GEY, K. F., GUTMANN, H. HEGEDUS B. y STRAUB, O. *Ann N. Y. Acad. Scie.* 80: 555, 1959.