

## Trastornos motores por Harmina y efecto de sus antagonistas

A estos experimentos nos llevó nuestras experiencias que disminuyen la substancia P al <sup>Harmina</sup> timina-tremor ( Zetler 1.956 a,b); cuando nosotros quisimos comprobar este hecho encontramos solamente un trabajo que describía la acción de pocos fármacos sobre el tremor de <sup>harmina</sup> timina ( Hara y Kawamori 1.954 ) esto es sorprendente porque primeramente el tremor de timina era ya conocido desde Neuner y Tappeiner ( 1.895 ) y por otra parte en trabajos sobre timina-tremor por Peer ( 1.939 a,b ) Hara ( 1.953 ) y Kawamori ( 1.954 se atribuye a una influencia del alcaloide sobre el sistema extrapiramidal.

Aunque el tremor de timina tiene una duración de aproximadamente 30 minutos en el ratón, después de una inyección subcutánea de 7mg./Kg. de timina hidroc্লórica, en los últimos años despertó el interés en muchos farmacólogos el tremor de nicotin, de poca duración ( Bovet y Longo 1.951, Dalhlbom, Edbund, Ekstrand y Katz 1.952, Reust 1.952, Cahen, Thomas y Tvede 1.953 ).

Este interés no es solamente teórico sino práctico, pues muchas substancias empleadas en el tratamiento del Parkinson tienen una acción inhibidora sobre el nicotin tremor y de esta manera pueden ser probados. A pesar de esto no existen trabajos sobre la relación entre la actividad de un fármaco sobre el nicotin tremor y tampoco su utilidad clínica como medicamento para el Parkinson.

No es conocido si el tremor de timina es especialmente sensible a los medicamentos para el Parkinson y talvez puede ser utilizado en forma más ventajosa que el nicotin tremor. Recientemente ha descrito Everett ( 1.956 ) que 1,4-dipirolidino-2-butin ( tremorine ) provoca un tremor semejante al del Parkinson ( Everett, Blockus y Shepperd, 1956; Everett, Blockus, Shepperd y Toman 1.956 ) estos autores han anotado que muy pocas substancias son conocidas, las que provoquen en dosis no tóxicas un tremor prolongado. Por todas estas consideraciones es necesario conocer algo más sobre la propiedad farmacológica del tremor de timina.



## MATERIAL Y METODICA

En los experimentos del tremor los animales de experimentación fueron ratones machos con un peso de 30-37 g. Estos animales pesaban en su primer mes de vida 16 g. y con 2 meses de edad 28 g. Es decir que los animales experimentados tenían unos 2,5 -3,5 meses. Los ratones fueron varias veces experimentados y después de cada experiencia pasaron 6 días en descanso con el fin de evitar la tolerancia a la timina observada por Flury ( 1.911 ). Todas las sustancias con pocas excepciones fueron disueltas en 0,9% NaCl. La timina fue aplicada en forma subcutánea mientras que las otras sustancias a más de esta aplicación se hizo administración simultánea intraperitoneal. El volumen del líquido inyectado fue constante, subcutáneamente e intraperitoneal 0,01 ml/g. peso.

El registro del tremor se hizo utilizando el aparato descrito por Zetler ( 1.956 a.) y modificado por él mismo ( Zetler 1.956 a,b) Debemos anotar una falla en nuestro aparato y que consiste en que movimientos espontáneos fueron registrados por éste. Esta dificultad fue de insignificante valor en nuestros experimentos anteriores, pues los animales después de la administración de timina o con tratamiento previo con la sustancia P se encontraban tranquilos y los movimientos espontáneos eran raros. En los experimentos actuales actúan una serie de sustancias en forma excitante sobre los animales, por lo que aparecen movimientos espontáneos y consiguientemente disturban el registro del tremor. Esta dificultad es fácil de obviar si se observa durante la experiencia la caja y el colector de trabajo y el momento que aparecen los movimientos espontáneos se elimina el contacto. En las experiencias la temperatura ambiente fue de 22-23°. La temperatura corporal de los ratones se midió en forma rectal con un termoelemento de 20 mm. En experimentos correspondientes en Wistar-ratas se empleó un termoelemento de 70 mm. La  $ED_{50}$  calculamos de acuerdo a Behrens Schlosser ( 1.957 ) . Los valores medios y sus errores medios que se encuentran en la Tabla # 3 en las figuras 1,2, y 3 con excepción de la diferencia media y su error medio individual calculamos según Gaddum ( 1.953 ). Los valores medios fueron entre sí comparados por medio de la distribución.



Nosotros consideramos que no existe una diferencia entre los valores medios cuando  $P$  es  $< 0,05$ .

Para la denominación de las sustancias empleadas utilizamos en lo que era posible nombres internacionales, no registrados siguiendo la lista de Marler ( 1.956 ). Los nombres comunmente empleados en Alemania se encuentran en la Tabla # 2.

Por la provisión generosa de las sustancias, agradecemos a los siguientes señores ( Ver. Pág. 35 párrago # 4 ).

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

Timina-hidroclorid produjo un tremor regular en los ratones en dosis subcutáneas de 7 mg./kg. iguales resultados obtuvieron también Hara y Kawamori ( 1.954 ) la tabla # 1 indica el tiempo de desarrollo del tremor y el que comienza pocos minutos después de la inyección, después de 10-15 minutos alcanza su máximo y luego disminuye lentamente en los siguientes 20 minutos. Nosotros investigamos si era conveniente registrar el tremor de 8 a 16 minutos después de la inyección o sea en el tiempo en el cual el animal presenta un tremor marcado. Los valores así obtenidos se extienden considerablemente ( Tabla # 1 ) Con un valor medio de 78 contactos se observó el valor más reducido 37, de todas maneras mayor que el valor medio de los 8 minutos en la figura # 1.

Un animal debe ser considerado como protegido del tremor bajo la acción de timina, cuando el tiempo de 8 hasta 16 minutos después de la inyección se han registrado solamente 25 o menor número de contactos.

En la figura # 2 se encuentran desarrolladas la acción de 3 antagonistas que protegen del tremor a un 20-30% de los animales, el número medio de contactos y con esto aproximadamente disminuye en un 50% la intensidad media del tremor. Si se aumenta la dosis de los antagonistas presentan una dependencia satisfactoria con la dosis. Por el contrario los valores medidos en la ( Curva A ) el efecto de la dosis menor en comparación de las acciones de las dosis siguientes más altas era considerable. Nosotros estimamos por correcto la relación entre la dosis de sustancia a examinarse y el



número de animales aquellos que de acuerdo a la definición anterior estaban protegidos del tremor. Nosotros deseábamos encontrar las dosis de cada sustancia que proteja al 50% de los animales del tremor de timina ( ED<sub>50</sub> ). Los resultados de esta investigación se encuentran en la Tabla # 2.

Everett ( 1.956 ) había encontrado que la tremorina productora de tremor además de éste ocasionaba salivación, diarreas y sobre todo un considerable descenso de la temperatura corporal; los medicamentos empleados en el Parkinson eliminan no solamente el tremor sino todas las acciones de la tremorina. También de la timina era conocido la propiedad de bajar la temperatura corporal ( Marcovigi<sup>y</sup> Giaja , 1951 ) por esto nosotros investigamos si en la timina igualmente que en la trimorine con medics adecuados era posible suprimir el tremor y la baja de temperatura. Nosotros encontramos que la temperatura corporal de los ratones después de administrar timina aumentaba considerablemente Figura # 3 y no disminuía como era de esperarse. Este hecho no se debió a impurezas en el preparado de timina pues la firma Merck/Darmstadt puso a nuestra disposición sustancia pura ( probada cromatográficamente ). Especialmente llama la atención la velocidad con que la temperatura asciende<sup>de nuevo</sup> después de la administración de timina en ratas de 150-170 g. de peso. Timina produjo un descenso de la temperatura corporal (Fig.# 3) con lo cual confirmamos las observaciones de Marcovigi y Giaja ( 1.951 ); el tremor de timina se presentó en las ratas aproximadamente 10 hasta 20 minutos después de la inyección, pero no en forma tan intensa como en los ratones.

En la tabla # 3 se describe como algunas sustancias contrarias al tremor de timina influyen la hipertermia de la timina. En la mayoría de los casos ya con dosis en las que 20-30% de los animales son protegidos del ~~KM~~ tremor la temperatura corporal no asciende más. En algunas sustancias ( 5-bencil-oxigramil, triptamin y cicrimin ) con estas dosis permanece aún la temperatura alta. Aumentando las dosis la temperatura se normaliza o inclusive baja del nivel normal ( 5-bencil- oxigramin, cicrimin ). A dosis altas de antagonistas, frecuentemente se observa una disminución de la temperatura corporal ( indol, medmain, idergin, cicrimin, 5-bencil oxigramin ).



Nos parece de especial importancia la siguientes observaciones:

- 1°.- La temperatura corporal puede descender bajo el nivel normal cuando aún se manifiesta el tremor ( BoL. 148 ).
- 2°.- Una hipertermia puede existir aún cuando el tremor se encuentre disminuido ( Fenitoin, LSD ).

#### DISCUSION

Hasta el momento solamente Hara y Kawamori ( 1.954 ) han investigado si el tremor de timina es posible inhibirlo con medios farmacológicos; ellos encontraron esta posibilidad con Bulbo Capnin, fenitoin y mefenezin, uretan amidón y barbitúricos. Nuestras investigaciones confirman a estos autores, también nosotros encontramos fenitoin y bulbo capnin especialmente activos. De estas dos substancias administraron los autores arriba indicados 10 mg./kg. lo que significaba más que nuestra  $ED_{50}$ . Lastimosamente Hara y Kawamori no realizaron investigaciones cuantitativas exactas.

De acuerdo a nuestros resultados el tremor de timina tiene otras propiedades farmacológicas que las del tremor de nicotín; especialmente notorio es que en el tremor de timina, atropina, escopolamina y belladona actúan como antagonistas mientras que el tremor de nicotín es muy débilmente o absoluta- mente nada influenciable ( Bovet y Longo 1.951, Cahen y Lynes 1.951, Hotovy 1954 ) si se toma como comparación de resultados de otros autotres se ve que experiencias hechas en conejos ( Tabla # 4 ) las relaciones cuantitativas entre substancias antagónicas al tremor son diferentes tanto para el nicotín como para la timina. Esto se puede apreciar en la Tabla # 5 que se refiere solamente a ratones. Aunque en la Tabla # 5 se compara solamente 4 substancias se puede reconocer que la acción de estos fármacos contra el tremor de timina no aclara ni la acción contra la acetilcolina ni la acción contra nicotín, Esto tiene valor también para la fenotiazina Fig. # 4 . Claro está que la comparación realizada en la tabla # 5 tiene un valor limitado, pues las acciones pequeñas de timina se encuentran al frente de las acciones mortales absolutas de nicotín y acetilcolina. Contra el significado de la actividad anticolinérgica para la acción contraria al tremor de timina habla también el hecho que gracias X a la introducción de un grupo metílico en la molécula de difenhidra-



mina ( disipal ), la acción anticolinérgica se duplica, la acción contraria al tremor permanece sin cambio alguno y si se introduce un grupo butílico terciario en lugar del grupo metílico ( Brocadest XCIX a ) la acción espasmolítica contra la acetilcolina aumenta 26 veces ( Harems 1.956 ) mientras la acción contra el tremor de timina disminuye a la mitad de la difenidramina.

También la acción sedante no parece ser la condición de la acción contraria al tremor de timina en las sustancias investigadas. En muchas sustancias se encontró a pesar de una buena acción contra el tremor signos de excitación central, el fenómeno de Straub-Schwanz se observó frecuentemente por ejemplo en caramifen y escopolamina. Por otro lado protegen del tremor a un 60% de los animales 200 mg./kg. de cloralhidrat, una dosis que en 4 de 10 animales ocasiona síntomas pre-narcóticos. Con el objeto de estudiar la significación de la acción sedante, hemos investigado algunas sustancias estudiadas cuantitativamente en su acción sedante en ratones después de inyecciones intraperitoneales por Weidmann y Petersen ( 1.953 ). Según la Tabla # 6 el componente sedante no es de mayor significación en la acción contra el tremor de timina. También la fuerte acción de la reserpina parece no hablar contrariamente a esta concepción, pues la reserpina no solamente intensifica la acción del pentilentretrasol, cofeína y del electroshock sobre el sistema nervioso central y disminuye la acción central de numerosos depresores ( Chen y Ensor 1.954 ) ( Chen, Ensor y Vohner 1.954 ) sino que también no provoca en el cerebro manifestaciones bioeléctricas del sueño ( Rinaldi y Himweh 1.955, Gangloff y Monier 1.955 ).



Peculiar es la acción intensa de los derivados de la fenotiazina contra el tremor de timina, tiacinaminn y etopropazin eran débiles en su acción comparados con la clorpromazina y la prometazina pero siempre de mayor acción que los medicamentos empleados en el Parkinson. La multiplicidad de propiedades farmacológicas de la fenotiazina, ( Fig. # 4 ) dificulta la explicación de su modo de acción en nuestros casos.

Una investigación cuantitativa minuciosa en el sentido de la Fig. # 4 es urgentemente necesario pues pueden existir relaciones entre la acción antitímica de la fenotiazina con la acción sedante y adrenolítica, hechos que pueden ser posibles de acuerdo a los resultados y opiniones de Hiebt, Bovalliet y Dell ( 1.954 ). En este sentido se pueden talvez entender las observaciones sobre la acción intensificadora de la adrenalina y noradrenalina en el Parkinson tremor y nicotin tremor ( Barcroft, Peterson y Schwab 1952, ) ( Laurence y Stacey 1.952 ).

De las varias sustancias por nosotros estudiadas es conocido que influyen la formación reticular del encéfalo y talvez aquí tienen su principal punto de acción ( Bovet y Longo 1.956 ) Rinaldi y Himwich ( 1.954 ) encontraron una relación directa entre la acción paralizante de las sustancias empleadas en el Parkinson sobre la formación reticular y su utilidad clínica. Por otro lado se puede provocar tremor estimulando o destruyendo ciertos sitios de la formación reticular ( Vernier y Unna 1.951 , 1953, Jenker y Ward 1.953, Folkerts y Spiegel 1.953 ) o tratando a los animales de experimentación con reserpina y clorpromazina ( Kaelber Jent 1.956, Windle, Cammermeyer, Feringa y Joralemon 1.956 ) .

En nuestras experiencias no está claro si también la timina provoca el tremor influenciando la formación reticular; Apomorfina actúa fuertemente antagónica en el tremor reticular ( Verney y Unna 1.953 ) La acción de la escopolamina fue más eficaz, que la de la atropina, clorpromazina y prometazina influyen depresivamente la formación reticular igualmente actúan estas dos sustancias como antagonistas de la timina. La fuerte acción de la reserpina contra el tremor de timina no se puede aclarar como una inhibición de la formación reticular, pues la reserpina en experiencias actúa en forma activante ( Rinaldi y Himwich 1.955, Gangloff y Monier 1.955 ) a esto



atribuyen los mismos autores al tremor que aparece a veces como reacción secundaria en la terapia con reserpina. Por el contrario tal vez se puede explicar la fuerte acción de la reserpina como un mecanismo inhibitor ( Ba-  
hen 1.955, Schneider, Plummer, Earl y Gaunt 1.955 ).

Contrariamente al importante papel que juega la formación reticular encefálica en la aparición e inhibición del tremor de timina se puede anotar:

1. la fuerte reacción " arousal reaction " que produce la apomorfina en conejos con dosis de ( 5 mg./kg. ) subcutáneos con una duración de varias horas ( Brücke, Petsche, Sailer y Stuarf 1.956 ) .
2. La acción relativamente débil de la atropina y escopolamina en comparación con las sustancias empleadas para el Parkinson de las cuales según Vernier, Unna ( 1.953 ), Benzhexol y Caramifén contra el tremor reticular actúan débilmente con respecto a los dos alcaloides.
3. La pequeña pero significativa diferencia en la acción de atropina y escopolamina, pues según Vernier, Unna ( 1.953 ), Longo ( 1.956 ) la acción depresiva de la escopolamina sobre la formación reticular es por lo menos 10 veces mayor que la atropina. Bajo este punto de vista es difícil explicar la acción de mefenazina y miocafina contra el tremor de timina, pues esta sustancia inhibe la formación reticular ( Bovet y Longo 1.956 ). Sin embargo no evita la " arousal reaction " después de la estimulación de la formación reticular. ( King 1956 ). También la acción nula del meprobamato es enigmática si se considera su parentesco farmacológico con mefenazin.

El número medio de contactos para el meprobamato fue ( 80,2 hasta 109,5 ) su valor normal ( 77,7 ) En esta dosificación no se vió ninguna acción del meprobamato contra el tremor de timina. Igualmente parece tener el meprobamato una acción nula sobre el Parkinson tremor. Dada su constitución química también Benactizina se debe esperar una acción contra el tremor de timina. Además según Berger, Hendley y Liness ( 1.956 ) estas sustancias bloquean la reacción de despertar después de una estimulación sensitiva y talámica y con respecto a su acción sobre el EG. No se diferencia de la atropina. De todas maneras benactizina actúa según los mismos autores sobre ratones en forma excitante y en relativamente pequeñas dosis convulsivo ( dosis con-



vulsiva media  $86 \pm 6$  mg./kg. intraperitoneal.

Nosotros investigamos si la serotonina es un antagonista de la timina según Woolley 1.956, Winter y Flataker 1.956 es posible administrar serotonina, debilitar la acción sobre el sistema nervioso central del ( LSD ) antagonista de la serotonina. En nuestros experimentos indudablemente actúa la serotonina antagonista del tremor de timina; se podría preguntar si la acción central típica de la timina se debe a un antagonismo de la timina con respecto a la serotonina. Pero también el LSD, 2 bron liserg acid dietilamid ( BOL 148 ), medmain y 5-bencil oxigramin inesperadamente actúan contra el tremor de timina, de acuerdo a esto la timina debe tener otro mecanismo de acción central. La timina es mucho más débil en su acción como antagonista de la serotonina con respecto a las sustancias anterioremente citadas; por esto no se puede explicar la acción intensa de la reserpina contra el tremor de timina, como una liberación de serotonina en el cerebro ( Brodie, Shore y Plestcher 1.956 ). También todas aquellas propiedades de estos derivados del indol sean o no sustancias frenotropas o alucinógenas ( como el LSD y timina ) no se prestan para explicar la acción por nosotros escrita; esto tiene valor también con respecto a las diferentes hipótesis sobre su mecanismo de acción, hipótesis que no serán discutidas en el presente artículo.

Nosotros investigamos por esto triptamina, triptofán e indol, suponemos que la fuerte actividad de estas sustancias contra el tremor de timina hace pensar que actúan sobre igual substrato que la timina y aquí gracias a sus propiedades de indol derivados compiten con la timina. Esta hipótesis es talvez reforzada con las observaciones de Windle, Cammermeyer, Feringa, Joralemon, Smart y Mc Quillen ( 1.956 ) ; administración de reserpina en monos trae consigo un tremor en reposo similar al tremor de timina, también fue observado este tremor en personas tratadas con reserpina, nosotros sabemos que no se puede olvidar las influencias complejas que ejercen sobre el cerebro la mayoría de los derivados de indol, alguno de estos componentes podrían explicar una acción antitímica o por lo menos favorecen esta acción ( así hedergina no solamente que no pertenece a la familia del indol sino que actúa en forma semejante ( Rothlin y Cerlitti 1.952 ) e igualmente tiene una acción andrenolfti-



ca como clorpromazina Ngai y Wang 1.955 )

En cuando a su constitución química y acción farmacológica muy difícilmente es posible establecer relaciones, además no tiene sentido buscar estas relaciones, pues no se conoce los puntos de acción de la sustancia, además es improbable que cada sustancia tenga solamente un punto de acción, especialmente como un órgano tan complicado como es el cerebro. También pueden actuar algunas sustancias en el cerebro en el mismo sentido o antagónicamente como ejemplo la apomorfina, la que disminuye el temblor de temina en el mismo grado que disminuye la clorpromazina, pero la acción hemética de la apomorfina es influenciada en forma antagónica por la clorpromazina ( Boyd, Cassell, Boyd y Miller 1.955 ). Se debe interrogar si los substituyentes psíquicos en el átomo N de las moléculas de Caranifén, cicrimin, benzhexol y akineton son de importancia, ya que esto parece ser así aparecen en la Tabla # 6. Se reemplaza el grupo tioeter-fenilmercapto ( M91 ) con el grupo ciclo-hexil mercapto la acción contra el temblor de temina se duplica. Disminuye sin embargo cuando a los grupos butil-mercapto, fenil-mercapto o cicloexilmercapto se les sustituye con un grupo butílico ( N71 ). Esta parte de la molécula debe ser aromática como ejemplo tenemos el disipal y su análogo teritiarbutil ( Brocadest XCIX a) si se introduce un resto alquilico disminuye su carácter aromático y también su acción contra el temblor de temina.

En nuestros casos parece no ser de mucho valor la presencia en el polo N de la molécula de los grupos dimetilamino, dietilamino o el anillo de la piperidina. Además parece ser menos importante si la parte media alifática de la molécula tiene su origen el ácido acético ( adefenin ) o si es un tioeter Tabla # 6 o su oxígeno es análogo, por ejemplo difenidramin.

Las relaciones entre la constitución y la acción no son características según ( Barlow 1.955 ) supone un mecanismo de acción físico-químico, pero tras de este cuadro poco diferenciado se esconden fenómenos complicados tal es el caso del feniton el que actúa sorprendentemente contra el temblor de temina Bonnycastle Paasonen y Giarman 1.956 ) indican que después de la administración de Fenitoin aumenta en el cerebro la concentración de serotonina; serotonina es de acuerdo a nuestros estudios fuertemente antagonista a la temina.



Es el tremor de timina más adecuado que el nicotin tremor para reconocer y valorar las sustancias empleadas en el Parkinson?

Seguro está que para aclarar esta pregunta debe reunirse mayor número de experiencias del tremor de timina. Pero lo que sí se debe anotar que el tremor de timina es por lo menos superior al nicotin tremor por el hecho de ser sensible a la atropina, escopolamina, belladona y apomorfina sobre el Parkinson tremor ( Vernier y Unna 1.951 ) ( Struppler y Uexküll 1.953 ).

La acción de timina sobre temperatura corporal es interesante porque Gogerty y Dille 1.956 con respecto al LSD suponen que la acción pirogénica en el animal y la acción sicógena en las personas marchan paralelas. También timina actúa sobre el síque ( Lewin 1.928 ). La acción pirógena de la timina en ratones es alta y es superior en rapidez de acción a todas las sustancias pirógenas conocidas. De estas consideraciones se puede concluir en su mecanismo central de acción de la timina. Las observaciones expuestas en la Tabla # 3 hablan en este sentido. Nuestros casos pudo la hidergina contrarrestar la hipertermia producida por la timina, la hipertermia producida por LSD no fue influenciada por la hidergina ( Horita y Dille 1.955 ).

En la manera diferente de comportarse de la timina con respecto a temperatura en ratas y en ratones se ve una diferenciación de especies. En forma interesante actúa LSD disminuyendo la temperatura corporal en las ratas. En conejos LSD aumenta considerablemente la temperatura corporal ( Zerletty 1.956 ). Por otro lado la morfina aumenta la temperatura corporal y en perros disminuye ésta ( Winter y Flataker 1.953 ). Finalmente Malorny ( 1.957 ) no encontró ninguna diferencia entre ratas y ratones con respecto a la acción de la corpromazina sobre la temperatura corporal; pequeñas dosis disminuyen la temperatura mientras que dosis grandes elevan ésta.

Se tiene la impresión que la acción de la timina sobre la temperatura corporal no tiene relación con la acción productora del tremor, pues este aparece tanto en ratones como en ratas, anotando que a dosis iguales el tremor es de mayor intensidad en los ~~ratones~~ que en las ratas.

Los resultados de la tabla # 3 sobre el tremor y la hipertermia no se encuentran unidos entre sí.



## R E S U M E N

Se trabajó y se describió sobre la acción de fármacos sobre el tremor de timina en el ratón, estableciéndose resultados cuantitativos. De esta substancia se investigó 41, las más activas en su acción antagónica al tremor de timina fueron Liserg acid dietilamid, 5-oxitriptamina, ( xerotonina, clorpromazina, megafen, prometazina ( atozil ) y apomorfina.

La temperatura corporal aumenta inmediatamente después de administrar timina en el ratón, por el contrario la temperatura en la rata, la hipertermia en el ratón no tiene unión causal con el tremor de timina.