

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

METABOLISMO DEL ACIDO NICOTINICO Y NICOTINAMIDA

EN SUJETOS NORMALES Y CARDIACOS

JUAN CADORNA GUIDI

TESIS para optar al grado de  
Doctor en Bioquímica y Farmacia

1 9 4 6

13888

Presento mi trabajo de Tesis de acuerdo con las reglamentaciones vigentes, para optar al título de Doctor en Bioquímica y Farmacia.-

Hago llegar a mi padrino de Tesis Profesor Dr. Orsini P.F. Micola mi más profundo agradecimiento por su cordial acogida y su sabia orientación.-

Va también aquí mi sincero homenaje a todos mis profesores, escultores del alma, de un alumno agradecido.-

**Padrino de Teste**

**Prof. Dr. GREINI F. P. NICOLA**

A MIS PADRES

Y HERMANOS



METABOLISMO DEL ACIDO NICOTINICO Y NICOTINAMIDA EN SUJETOS  
NORMALES Y CARDIACOS.-

PLAN DE TESIS

PARTE GENERAL:

- Cap.I.- Enfermedades carenciales. Breve reseña histórica.-
- Cap.II.- Acido Nicotínico y derivados, reseña histórica y química, propiedades.-
- Cap.III.- Relación de la Nicotinamida con los fenómenos oxi-reducción. Coenzimas que contienen nicotinamida, su estudio.-
- Cap.IV.- Acido nicotínico y derivados.- Avitaminosis, Uso en terapéutica. Metabolismo. Necesidades. Importancia biológica. Acciones farmacodinámicas.-
- Cap.V.- Comentarios sobre métodos de determinación de ácido nicotínico.-

PARTE EXPERIMENTAL.-

- Cap.VI.- Métodos de determinación en sangre y orina.-
- Cap.VII.- Determinación en sangre y orina de sujetos normales, su eliminación, sin y con dosis terapéuticas de ácido nicotínico.-
- Cap.VIII.- Determinación de ácido nicotínico en sangre y orina de cardiacos, sin y con administración de dosis terapéuticas.-
- Cap.IX.- Metabolismo de Acido Nicotínico en sujetos normales y cardiacos.-
- Cap.X.- Conclusiones.-
- Cap.XI.- Bibliografía.-

P A R T E

G E N E R A L

C A P I T U L O I

ENFERMEDADES CARENCIALES

BREVE RESEÑA HISTORICA

Las enfermedades carenciales se inician con la humanidad misma pero la historia de las vitaminas comienza recién en los últimos decenios del siglo pasado, con Christian, Nijmaan, Elmer, Mc Collum y Conrad Elvehem. Antes de nuestra Era, existen documentos manuscritos que manifiestan enfermedades de carencia, y también se han encontrado esqueletos con signos claros de raquitismo. La ceguera nocturna fué conocida por los antiguos, y la Biblia menciona la cura del ciego Tobías por medio del hígado de pescados, medicación que fué usada hasta fines del siglo XIX en que Schütte recomienda en Alemania el uso del aceite de animales marinos como específico para la cura del raquitismo y ceguera nocturna asociado a los baños de sol.-

El escorbuto, bien conocido durante los largos viajes que se realizaron durante la edad media, fué prevenido específicamente con los jugos de limón y naranjas, además de los extractos de distintos vegetales que eran clásicos, según las regiones de Europa, así los franceses usaban el rábano picante, los españoles los citrus.-

La enfermedad conocida con el nombre de beriberi, endémica hasta fines del siglo pasado en los países asiáticos, fué estudiada por Takaki en el ejército japonés y dedujo en 1882 que era debido al uso del arroz descascabillado. Con este descubrimiento se inicia el período de estudios sistemáticos sobre los verdaderos factores que provocan las enfermedades carenciales.-

Eijmaan comprobó en 1897 que el beriberi puede ser curado con el

uso del salvado de arroz. En 1907 Holst y Frölich provocan avitaminosis beribérica en cerdos de Guinea, y simultáneamente Eijmaan las obtiene en pollitos.- Los cerdos de Guinea a veces no desarrollaban el beriberi pero si la enfermedad reconocida como escorbuto. Fué este el motivo para buscar el factor antiescorbútico en las sustancias alimenticias.-

Muchos investigadores trabajaron desde entonces con el fin de identificar los verdaderos factores carenciales. Hopkins en 1906 publicó una lista de sustancias alimenticias para prevenir y curar el beriberi y el escorbuto.-

Funk en 1912 consideró los trabajos de las investigaciones anteriores y dió los conocimientos básicos actuales sobre las enfermedades carenciales, siendo el primero que reconoció la pelagra como enfermedad de deficiencia.-

Solo después de experimentos sistemáticos, en condiciones variadas, y con técnicas cada vez más rigurosas, se plantearon resultados convergentes, llegándose al convencimiento, que tanto el hombre como el animal, necesita para sus funciones vitales, (desarrollo, conservación y reproducción) además de sustancias energéticas y plásticas, otras hasta entonces desconocidas. La definición de la constitución de estas sustancias desconocidas, las vitaminas, provocó un aumento del interés de los biólogos especialistas en proporción casi no imaginable. Los grandes resultados terapéuticos han estimulado a los médicos, y cada día se amplía más aún el campo de las experiencias.-

Las estrechas relaciones de las vitaminas con las hormonas, han proporcionado muchos datos sobre la patogenia de ciertas enfermedades carenciales en provecho de la medicina en los trabajos de investigación. Se ha reconocido que las vitaminas tienen importancia fundamental, no solamente como sustancias complementarias, sino también por el hecho que ejercen efectos terapéuticos que van mucho más lejos de

la función que les corresponde en la alimentación (1).-

La primera descripción sobre la pelagra, fué realizada por un médico español, Gaspar Casal, médico real de Felipe V durante el siglo XVII, llamándola "enfermedad de la rosa". Durante el siglo XVIII, en el año 1730, el 50 % de la población del norte de Italia estaba afectada de pelagra y en 1771 Frapolli designa a dicha enfermedad con el nombre de "Pelagra" corrupción del vocablo italiano "pelle agra", piel áspera. Desde 1818 a 1880 se reconoce como endémica en Francia. Raras veces en la región Balcánica y otros países europeos. Donde aún constituye un problema sanitario importante, desde el año 1863, es en los Estados Unidos de Norte América, si se tiene en cuenta el uso del maíz para la fabricación del pan, sobre todo en los estados del sud.-

En 1916, Spencer señala la analogía existente entre la pelagra humana y la "lengua negra canina" (2).-

En 1917, Chittenden y Undrehill obtuvieron en perros, un estado patológico parecido a la pelagra humana, la cual llamaron "lengua negra canina" y en 1926 Goldberger y Lillie lo realizan en ratas albinas con dietas exentas de factor antipalagroso.-

En 1928, Golberger y colaboradores, buscaron la sustancia capaz de curar la lengua negra canina, la cual era efectivamente idéntica a la que cura la pelagra humana. Aykroyd y Roscoe toman las conclusiones de Goldberger (1929) (1) y deducen la similitud entre la pelagra humana y la sintomatología de la avitaminosis PP, siendo la vitamina B6 indispensable para la rata, sería también necesaria para el hombre. La pelagra de las ratas y del hombre, serían pues enfermedades idénticas, pero ciertos síntomas de la pelagra humana, especialmente el aumento de fotosensibilidad, y las hiperpigmentaciones, no se observaron nunca en las ratas. En 1936 Birch, György y Harris indican que el factor PP, necesario para el hombre, es distinto del factor B6 indispensable para la rata. Simultáneamente se comprueba que la pelagra

humana es una enfermedad de etiología mixta, debido a una carencia alimenticia múltiple, que se compensa principalmente, pero no exclusivamente, con el aporte del factor PP. Estos estudios estimularon un amplio interés en la significación nutricia del ácido nicotínico y derivados y ya en 1917 Williams (4) expuso que el ácido nicotínico, trigonelina, vitamina antipolineurítica y otros derivados de la piridina en productos naturales, no causa una mejora permanente en la polineuritis de pollos. Szymanska y Funk (5) atribuyen una acción protectora y un estímulo al apetito, con aumento de peso al factor preventivo de la pelagra. -

Funk y Funk (6) establecieron que una gran cantidad de alimentos desarrollaban un crecimiento mas acentuado en ratas y palomas, con ciertas dietas, cuando poseían ácido nicotínico o su amida, pero Frost y Elvehjem (7) observaron este crecimiento, agregando al factor PP, ácido adenílico y dietas purificadas.-

Elvehjem, Maddem, Strong y Woolley (8) usando un concentrado de hígado, altamente purificado, preparado por Koehn y Elvehjem (9), demostraron la actividad del ácido nicotínico y su amida en la cura de la lengua negra canina, aislando posteriormente nicotinamida de los concentrados hepáticos.-

La actividad del ácido nicotínico y derivados en la cura de la lengua negra canina, fúe pronto verificada por un gran número de investigadores en sus trabajos, entre los que merecen citarse los de Dawson, Sebrell, Onstatt, Fraser y Daft (10), y Street y Cowgill(11).-

Los primeros informes sobre los usos satisfactorios en el tratamiento de la pelagra humana fueron realizados por Spies, Cooper y Blankenhorn por una parte y por Fouts por otra. (12, 13).-

En 1937, Knight, (14) encontró que el ácido nicotínico y su amida, es un factor esencial en el desarrollo del *Staphilococcus aureus*, preparando medios de cultivo con este factor de crecimiento. Tambien

Mueller, en 1937 demuestra la importancia de su presencia en medios de cultivo del bacilo de Loëffler (15). Koser, Dorfman y Saunders (16) para el bacilo disentérico, y Fildes para el Proteus (17). Con estos trabajos se verifica la importancia del factor antipelagroso, en el metabolismo bacteriano.-

Estudios actuales demuestran que el ácido nicotínico y derivados, no son idénticos al factor antipelagroso de la rata, ni del pollo, y que las sustancias activas del pollo y de la rata son distintas(2).

El aislamiento del factor PP en forma pura, y su identificación como un derivado de la piridina, conocido desde tiempo atrás, el ácido nicotínico y su amida, son éxitos norteamericanos, debidos a Elvejhem, Madden, Strong y Woolley.-

## C A P I T U L O   I I

### ACIDO NICOTINICO Y DERIVADOS

#### RESEÑA HISTORICA Y QUIMICA - PROPIEDADES

Sinonimia: Vitamina PP, Factor PP, Niacina, Vitamina antipelagrosa, Acido piridin 3 carbónico, Acido  $\beta$  piridin carbónico.-

Síntesis: El primero en obtener ácido nicotínico, fué Huber en 1867, oxidando la nicotina con dicromato de potasio y ácido sulfúrico. El compuesto obtenido tenía por fórmula  $C_6H_5NO_2$  (1) que Huber no reconoció como ácido piridin carboxílico.-

Weidel en 1873 prepara ácido nicotínico a partir de la nicotina y oxidando con ácido nítrico, dando al producto final el nombre de ácido nicotínico, por haberlo obtenido del alcaloide del tabaco. Dió la siguiente fórmula al compuesto  $C_{10}H_8N_2O_3$ .- Posteriormente Laiblin (2) reconoce este compuesto como ácido piridin carboxílico, idéntico al que obtuvo Huber. En 1879 Weidel (3) oxida la beta picolina y demuestra haber encontrado el ácido nicotínico, ser idéntico al ácido  $\beta$  piridin carboxílico.-

Transcurrieron casi 15 años antes que el ácido nicotínico fuera aislado de productos naturales. Suzuki Shimamura y Odake (4) lo aislaron del salvado del arroz, durante la búsqueda de la vitamina antipolneurítica (Vitamina B<sub>1</sub>). Funk (5) lo aísla simultáneamente de la levadura y del salvado de arroz, demostrando que el producto extraído no desplegaba actividad en la cura del beriberi de las palomas.-

En 1926 Vickery (6) lo identifica en la levadura sin previa hidrólisis, diciendo erróneamente que se encontraba al estado libre.-

En 1934 Warburg y Christian (7) aislaron la nicotinamida de la cozimaza II, y demostraron su función como parte transportadoras de

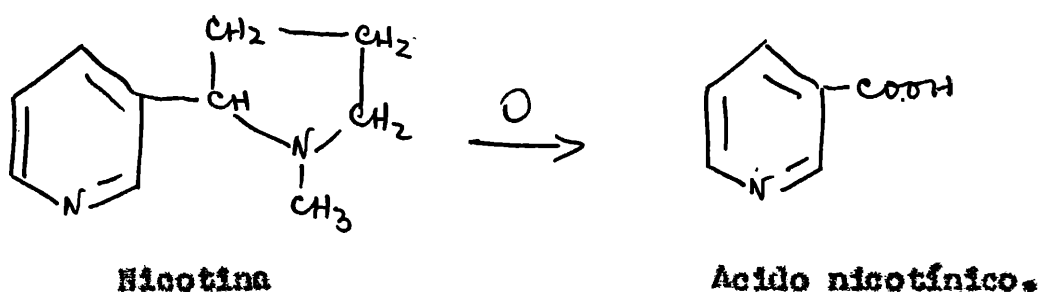


hidrógeno de la coenzimas. Tiempo despues Suler, Albers y Schlenk (8) separan la nicotinamida de la Coenzima I, conociéndose así que ambas coenzimas eran derivados de la nicotinamida-adenina-dinucleotidos, pero que la coenzima II contenia tres moléculas de ácido fosfórico, mientras que la coenzima I, contiene solamente dos.-

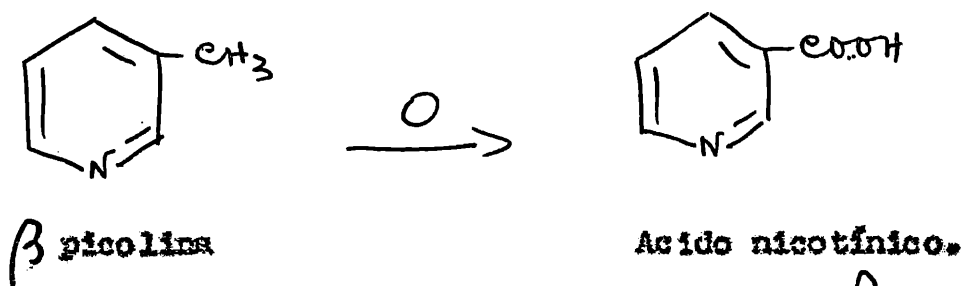
Euhn y Vetter (9) prepararon tambien nicotinamida del músculo cardíaco.-

Actualmente se siguen diversos métodos para la obtención del ácido nicotínico y derivados.-

Por oxidación de la nicotina, método usado por Huber, oxidando con dicromato de potasio y ácido sulfúrico, tambien puede usarse como oxidante el ácido nítrico, usado por Weidel.-



Weidel tambien lo preparó a partir de la  $\beta$  picolina oxidando con ácido nítrico.-



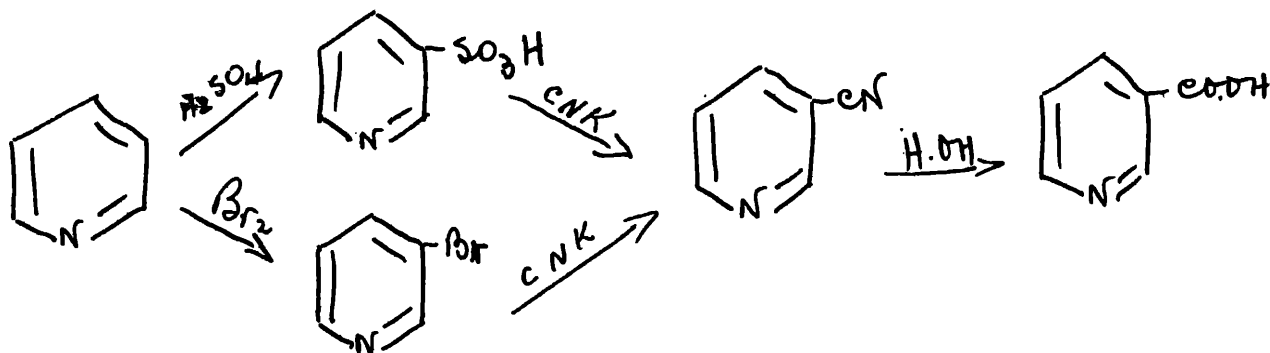
Weidel y Hazura (10) usan como materia oxidante la  $\beta$ etil piridina.

Skraup y Cobenzl (11) la  $\beta$  fenil piridina, y Skraup y Vortmann (12) el 3-3' dipiridilo.-

Fischer parte de la piridina (13) sulfonándola con ácido sulfúrico fumante. Destila su sal sódica con cianuro de potasio, obteniéndose así el ciano derivado. Finalmente saponifica y obtiene el ácido ni-

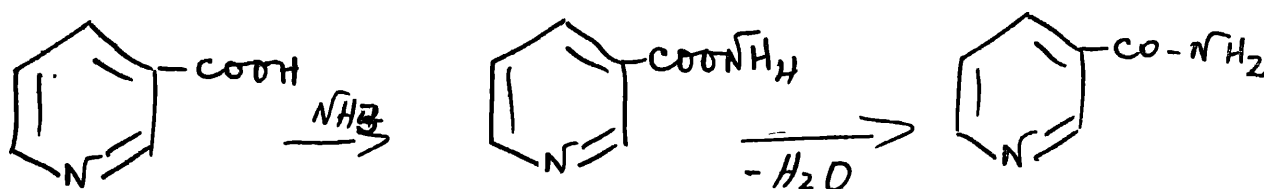
nicotínico.-

Mc Elvain y Goese (14) utilizan bromo en lugar de ácido sulfúrico fumante y proceden como Fischer.-



Industrialmente se prepara oxidando la nicotina del tabaco con ácido nítrico (15).-

Para obtener la nicotinamida se neutraliza el ácido nicotínico con amoníaco, taniéndose así el nicotinato de amonio, que por pérdida de agua da la nicotinamida.-



Ac. Nicotínico

Nicotinato de  $NH_4$

Nicotinamida.

PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS:

Del ácido nicotínico:

Peso molecular: 123 g.

Punto de fusión: 235-237 ° C.-

Se encuentra como un polvo cristalino, o pequeñas agujas blancas. No es higroscópico, inalterable al aire. Soluble en agua 1: 60 a 25° C. Soluble en cualquier proporción en agua caliente. Solubilidad en alcohol etílico 1: 80 a 25 °C. y totalmente soluble en alcohol caliente. Insoluble en éter. Fácilmente soluble en soluciones de álcalis o carbonatos alcalinos.-

La solución acuosa al 1 % es relativamente débil, ácida al rojo

Congo. Su sal sódica al 1 % tiene pH = 7.4.-

No es destruido por ácidos o álcalis fuertes en caliente.-

Sublima sin descomponerse.-

Muestra una absorción típica del espectro, con un máximo a 285m $\mu$ .

El carácter ácido se reconoce por la formación de sales de plata, cobre, y de varios derivados, tales como ésteres. El carácter básico reconocido por la formación de sales cristalizadas, tal como clorhidrato, bromhidrato. (16-17-48).-

La meta o posición 3 del grupo carboxílico ácido, en referencia al anillo nitrogenado, fué estudiado por Skraup, quién investigó las constantes físicas y la decarboxilación de las tres posibles piridinas monocarboxílicas: Ácido picolínico (orto ó 1-2), ácido nicotínico (meta o 1-3), y 4 piridín carboxílico (para o posición 1-4) (18). La posición meta es la correcta, porque con oxidación de la 3 fenil piridina se prepara el ácido nicotínico sintéticamente, quedando fuera de duda la posición del carboxilo(19).

Ensayos de reconocimiento y pureza:

1<sup>o</sup>).- Disolver 0.05 g. de ácido nicotínico en 5 ml. de agua caliente. Agregar 0.05 g. de ácido flaviánico; evaporar a sequedad. Tomar el residuo con 5 ml. de agua fría, centrifugar y lavar el precipitado varias veces (tres o más) con 2.5 ml. de agua cada vez. Recristalizar en 5 ml. de alcohol etílico. Centrifugar nuevamente y lavar el precipitado dos veces con 3 ml. de eter.-Filtrar, secar. El punto de fusión debe ser 249- 250<sup>o</sup> C.-

2<sup>o</sup>).- El ensayo de halógeno debe ser negativo.-

3<sup>o</sup>).- Por calcinación no debe dejar residuo.-

4<sup>o</sup>).- Disolver 0.05 g. de ácido nicotínico en 25 ml. de agua destilada. Agregar 2.5ml. de solución de sulfato de cobre al 10 %. Se forma lentamente un precipitado azul oscuro de nicotinato de cobre.-

5<sup>o</sup>).- 0.05 g. de ácido nicotínico se titula con solución de hidróxido de sodio 0.1 N usando fenolftaleína como indicador. Cada ml. debe co-

responder a 0.0123 g.- Deben encontrarse como mínimo el 99 % y como máximo 101 % --

6º).- 0.1 g. de ácido nicotínico mantenidos en el vacío durante 5 horas a 2 mm. de mercurio, sobre anhídrido fosfórico no deben perder más 0.1 % de agua (16).--

De la nicotínamida:

Peso molecular: 122 g.

Punto de fusión: 129- 131º C.--

La nicotínamida es un polvo cristalino, blanco, no es higroscópico. Posee un sabor ligeramente ácido. Es inalterable al aire. Soluble en dos partes de agua a 20°C.; en 4 partes de alcohol etílico al 85%; en 8 partes de glicerina anhidra y en 20 partes de acetona. Ligeramente soluble en éter, e insoluble en benceno.--

Su solución acuosa es debilmente alcalina, pH = 8.0.--

Se hidroliza a ácido nicotínico al calentarla en presencia de un álcali o un ácido fuerte (20).--

Destila a 150-160º C. y  $5 \times 10^{-4}$  mm. de mercurio sin descomponerse (21).--

Ensayos de reconocimiento y pureza:

El ensayo nº 1 de ácido nicotínico debe dar un precipitado, cuyo punto de fusión, para la nicotínamida, es de 269-270º C.--

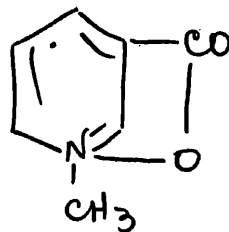
El ensayo 2º y 3º igual que el ácido nicotínico.--

El nitrógeno determinado por Micro-Dumas no será menor de 22.6 y no mayor de 23.3 %. Teóricamente debe poseer 22.95 g.% (16).--

Precipita con soluciones de ácido fosfotúngstico, y también con bismitiyoduro de potasio.--

Otros derivados del ácido Nicotínico.--

Trigonélina: Betaina del ácido N-metil nicotínico.--



Propiedades:

Peso molecular: 137 g.

Punto de fusión: 215-218° C.

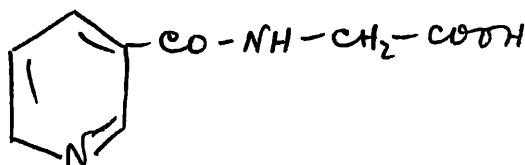
La trigonelina es soluble en cualquier proporción en alcohol etílico y agua.-

La trigonelina fué aislada primeramente por Jahn en 1885 de los productos metabolizados del ácido nicotínico. En 1912, Ackermann comprobó que los perros la eliminaban en gran cantidad por vía renal, en un 50 a 51 % de la ingesta de ácido nicotínico, equivalente aproximadamente a la suma de ácido nicotínico libre y ácido nicotínúrico (22-23).-

También se ha aislado trigonelina de la estrella de mar por Holtz Kutscher y Thielman en 1924 (24).- Subbarow y Dann lo aislaron del extracto hepático (25).-

La trigonelina no se utiliza como antipelagroso, aunque tiene una acción vitamínica débil.-

Acido nicotínúrico: Nicotínil glicina, nicotínil glicocola.-



Propiedades:

Peso molecular: 180g.

Punto de fusión: 240-242° C.-

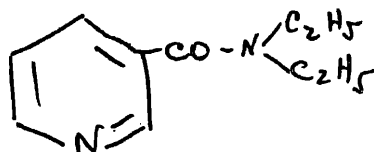
Es un producto del metabolismo del ácido nicotínico, que se debe a la conjugación con la glicina o glicocola.- Es un constituyente común de la orina (16-18).- Trabajos de Levy, Sarret y Perleweiz (26) indican que el 36 % del ácido nicotínico eliminado se encuentra como á-

ácido nicotínico.-

Síntesis: Se prepara agregando al cloruro de ácido nicotínico, una solución acuosa fría de etil glicocola (éster) en solución alcalina débil.- El compuesto es cristalizado por dilución en solución de ácido clorhídrico.-

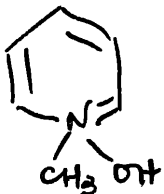
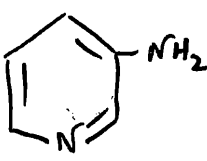

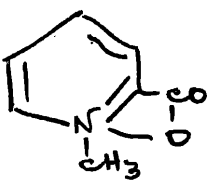
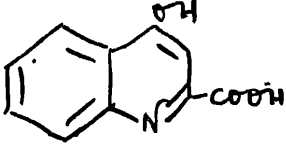
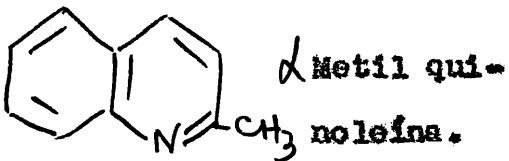
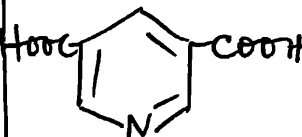
FORMA SUSTITUIDA DE LA NICOTINAMIDA

Coramina; Dietil amida del ácido nicotínico.-



Este compuesto desarrolla plena actividad vitamínica, y se usa como analéptico cardíaco (17).-

OTROS COMPUESTOS DE LA PIRIDINA ENCONTRADOS EN LA NATURALEZA:

Compuesto	Aislado de:	Encontrado por:
 <p>Hidróxido de metil piridonio</p>	Orina humana	Kutscher y Lohmann(27) Ackermann y Kutscher(28) Ackermann et. al (29)
 <p><math>\beta</math> amino piridina</p>	Extracto hepático.	Subbarow, Dann y Weisman (30)
 <p><math>\gamma</math> picolina</p>	Orina de caballo	Achelis y Kutscher(31)
 <p>Homarina</p>	Músculo de sangrojo de mar. Ciertas estrellas de mar.	Hoppe-Seyler (32)
 <p>Acido Cinquinúrico.</p>	Orina de perros.	Liebig y otros (33)
 <p><math>\alpha</math> Metil quinoxalina.</p>	Glándulas anales de zorrino.	Aldrich y Jones (34)
 <p>Acido di-nicotínico</p>	Extracto hepático.	Subbarow (30) (35)

La actividad del ácido nicotínico y nicotinamida fué demostrada primeramente en perros, y se han hecho estudios con todos los compuestos relacionados sobre este animal. En 1938, Woolley, Strong, Madden y El-

vehjem (36) ensayaron alrededor de 20 compuestos diferentes. Fue evidente que una estructura bien específica es necesaria para la actividad anti lengua negra. Los isómeros  $\alpha$  y  $\gamma$  del ácido nicotínico (ácido picolínico y ácido isonicotínico) fueron inactivos, igualmente el ácido nipecótico (ácido hexahidronicotínico).-

Todos los compuestos ensayados en los cuales uno de los hidrógenos del anillo ha sido reemplazado por un metilo o un carboxilo, son inactivos. La substitución del carboxilo por un sulfónico, o un ciano grupo, o la acción de quitar el carboxilo (piridina) llevó en cada caso a la inactividad del ácido nicotínico.-

Damos a continuación una tabla donde figura distintos compuestos vinculados al ácido nicotínico, y que no tienen actividad biológica en el metabolismo bacteriano; ni en el hombre y el perro.-



Compuesto	Porro	Bacilo di- otérico.	Staphiloc- coccus au- reus.	Hombre	Actoba- cillus a- rabino- sus.	Pro- teus
Piridina	-(36)					
Clorh. de aco- etil piridina.	-(36)	-(39)				
Ac.6 metil ni- cotínico.	-(36)	-(39)				
Ac.nipecótico	-(36)	-(39)				
Nicotin nitrí- lo.-	-(36)	-(39)	-(40)			
Ac.isonicotí- co.	-(36)	-(39)	-(40-41)			
Ac.piridin sul- fónico.	-(36)	-(39)				
Ac.picolínico	-(36)	-(39)	-(40,41)	-(42,43)		-(47)
Trigonelina.	-(36)	-(39)	-(40,41)	-(42,43)	-(45)	-(47)
Amino piridi- na.	-(37) -(38)			-(42,43, 44)		
Nicotinamida nato clorhí- drica.	-(36)				-(46).	

Hace excepción en este cuadro la trigonelina, que Subbarow y Mann afirman que tiene una débil actividad vitamínica en el hombre.-

### C A P I T U L O    I I I

#### RELACION DE LA NICOTINAMIDA CON LOS FENOMENOS DE OXIDO.- REDUCCION.-

##### Coenzimas que contienen nicotinamida- su estudio.-

Todas las células vivientes, animales y vegetales, contienen entre sus enzimas ciertas dehidrogenasas, transportadoras de hidrógeno que provocan fenómenos de óxido-reducción.-

La concepción clásica, que cada una de estas enzimas o mejor holoenzimas, se une a proteínas específicas para formar las apoenzimas. La apoenzima se cree no tiene propiedades catalíticas particulares y sería la proteína dadora de coenzimas, la cual forma el grupo prostético de la proteína.-

Otro concepto es que la proteína es la enzima misma y que la coenzima actúa solamente como un sustrato específico para aceptar hidrógeno. Hay dos coenzimas conocidas de esta clase de dehidrogenasa, especialmente las Codehidrogenasas I y II, llamadas también Coenzimas I y II.-

El número de apoenzimas que se combinan con aquellas dos codehidrogenasas es considerablemente grande.- Se ha creído que las dos Codehidrogenasas necesitan diferentes apoenzimas para su acción como agentes oxidantes o como reductores.-

Fueron usadas proteínas específicas para cada sustrato, y una proteína específica puede en casos especiales deshidrogenar el mismo sustrato con diferentes codehidrogenasas.-

En la tabla siguiente se revisa las mejores reacciones conocidas en la que participan las codehidrogenasas. Se evidente que las codehidrogenasas están implicadas en una variedad amplia de acciones. Hay probablemente otras reacciones en las cuales no se ha investigado exactamente su mecanismo, por ejemplo, la oxidación de la cisteína a cisti-

na, que implica la participación de una codehidrogenasa sin conocerse su mecanismo.-

<u>Substrato</u>	<u>Origen de la apoenzima</u>	<u>Codehidrogenasa</u>
$\beta$ hidroxi butirato $\rightleftharpoons$ acetoacetato	Músculo cardíaco	I
Formiato $\rightarrow$ CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O	Semilla de guisante seca	I
Lactato $\rightleftharpoons$ piruvato	Músculo estriado	I
Malato $\rightleftharpoons$ oxalacetato	Músculo estriado	I
Alcohol etil $\rightleftharpoons$ acetaldehído	Levadura Hígado	I I
Glucosa $\rightarrow$ Ac. glucónico	Hígado	I ó II
Ac. glutámico $\rightleftharpoons$ $\alpha$ ketoglutarico + NH <sub>3</sub>	Plantas Levadura Hígado	I II I ó II
2 acetaldehídos $\rightarrow$ 1 alcohol + 1 ácido (mutarrotación del aldehído)	Hígado	I
$\alpha$ glicero fosfato $\rightarrow$ fosfoglicerato	Esqueleto, intestino y Músculo cardíaco	I
Fosfogliceraldehído $\rightleftharpoons$ difosfoglicerato (Catabolismo de la triosa)	Esqueleto, músculo cardíaco y cerebro	I
Glucosa 6 fosfato $\rightarrow$ 6 fosfogluconato	Levadura, eritrocitos	II
6 fosfogluconato $\rightarrow$ Fosfoketoxonato	Levadura, tejidos animales	II
Citrato $\rightarrow$ $\alpha$ keto glutarato	Hígado, corazón	II

Durante el curso de las reacciones de deshidrogenación indicadas en la tabla, las codehidrogenasas son reducidas a dihidrocompuestos. La reacción reversible, la oxidación de las dihidrocodehidrogenasas a codehidrogenasas, se realiza en presencia de diferentes apoenzimas como estado previo.-

Todas las reacciones de deshidrogenación son reversibles, aunque en tejidos vivos generalmente no tienen equilibrio debido a los pro-

ductos de reacción no acumulados, pero sufren una reacción más amplia. Prácticamente el equilibrio puede ser demostrado en muchos casos tal como el sistema referente al alcohol  $\rightleftharpoons$  acetaldehído y está indicada en la tabla anterior para aquellos sistemas en los cuales la reacción reversible ha sido experimentalmente demostrada.-

También se han determinado constantes de equilibrio para las codehidrogenasa I y para muchas de las reacciones catalizadas por las codehidrogenasas que son generalmente expresadas en forma de potencial oxidación-reducción (1-2).-

### COENZIMAS QUE CONTIENEN NICOTINAMIDA

#### CODEHIDROGENASA I

Sinonimia: Codehidrogenasa I, Coenzima I, Cozimas, Cofermento I, Difosfopiridina Nucleotídica, Cofermento de fermentación, Correductasa, Factor V.-

Peso molecular: 663

La Codehidrogenasa I está extensamente distribuida en la naturaleza, en las células animales y vegetales, en las cuales son metabolizadas como carbohidratos. La levadura de cerveza y los glóbulos rojos son ricas fuentes, y algunos músculos, por ejemplo, músculo cardíaco contiene altas cantidades. La levadura fresca tiene alrededor de 0.5g. de codehidrogenasa por kilogramo, y en el músculo cardíaco de conejo, 0.4g. por kilogramo. La misma cantidad (0.1-0.4g.) se ha calculado que está presente en los músculos de hombre y de invertebrados.-

Se ha encontrado en los microorganismos; ha sido obtenido del *Azotobacter chroococcus* y en cantidad semi-constante.-

En los músculos de los animales hay un equilibrio entre la forma reducida y oxidada. La primera constituye alrededor del 35 al 45 % de la cantidad total. Un aumento de la cantidad de la forma reducida ha

sido encontrada en el sarcoma de Jensen.-

#### Propiedades.-

La codehidrogenasa I es una sustancia soluble en agua, incolora, insoluble en todos los solventes orgánicos. Tiene una absorción característica del espectro con un máximo a 260 m $\mu$ . Esta absorción característica del espectro varía por reducción a dihidrocodehidrogenasa, la que se realiza durante la acción enzimática con la aparición de una banda adicional a 320-360 m $\mu$  con un máximo a 340 m $\mu$ .-

La codehidrogenasa I no posee fluorescencia, mientras que el dihidro compuesto tiene una fluorescencia blanquecina fuerte por irradiación con luz ultravioleta. Es ópticamente activa, siendo la rotación específica aproximadamente a  $-20^{\circ}$  para la línea roja del cadmio (643,9 m $\mu$ ) y  $-70^{\circ}$  para la línea amarilla del mercurio.-

Es completamente estable en solución ácida a moderada temperatura en forma oxidada, ya que la dihidrocodehidrogenasa es destruida por los ácidos.-

En solución alcalina la codehidrogenasa es rápidamente destruida, mientras que la dihidrocodehidrogenasa permanece sin cambio cuando se calienta en Na. OH 0.1N durante 30' a 100°C.-

La codehidrogenasa es inactivada por luz ultravioleta (1).-

El punto isoelectrico es a pH = 3, 1.-

Es relativamente estable frente a los agentes oxidantes, por ejemplo, el agua oxigenada, pero es atacada por oxidantes en presencia de varios catalizadores, como el hierro, etc.-

#### Constitución.-

Tiene la siguiente fórmula empírica: C<sub>21</sub> H<sub>27</sub> N<sub>7</sub> O<sub>14</sub> P<sub>2</sub>. Es un dinucleótido en el cual la hidrólisis produce adenina, nicotinamida y dos moléculas de d-ribosa fosfórica.- El ácido fosfórico está unido a la ribosa en posición 5, ya que no se obtiene formaldehído por oxida-

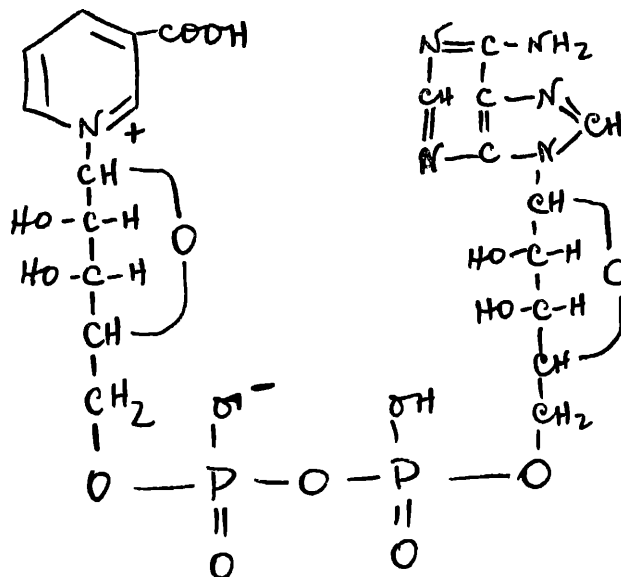
ción con ácido periódico.-

La hidrólisis alcalina de la codehidrogenasa I produce adenosina difosfórica, la que prueba la existencia de un pirofosfato unido a la molécula de coenzima.-

El tartrato de codehidrogenasa I, actúa como un ácido monobásico, y naturalmente la dihidrocodehidrogenasa actúa como dibásico.-

Estos resultados experimentales sugieren que uno de los grupos hidroxilos libres del ácido fosfórico está unido al átomo nitrogenado de la piridina.-

Kuler y Schlenk sugieren la siguiente fórmula para la codehidrogenasa I:



Codehidrogenasa I.

Síntesis:

No existe claro fraccionamiento en la síntesis de la codehidrogenasa I.-

Se ha observado que los constituyentes de la sangre son capaces de convertir "in vitro" ácido nicotínico y nicotinamida en codehidrogenasa I.- Se ha supuesto primeramente que los eritrocitos normales efectuaban esta síntesis, pero posteriormente se comprobó que las células nucleadas de los glóbulos blancos de las series linfoide y mieloides, tienen que ser los responsables de la síntesis de las codehidrogenasas I y II.-

Hay también una definida tendencia a indicar que la síntesis enzimática de la codehidrogenasa I proviene de la codehidrogenasa II.-

Unidad "Standard":

Se la define como la cantidad que produce 1 ml. de CO<sub>2</sub> en una fermentación normal, bajo condiciones especificadas.-

CODEHIDROGENASA II

Sinonimia: Codehidrogenasa II, Coenzima II, Coenzima respiratoria, Trifosfopiridina nucleotídica, Cofermento de Warburg, Factor V de crecimiento.-

Peso molecular: 743 g.-

Se encuentra distribuida ampliamente en la naturaleza al igual que la codehidrogenasa I y se presenta en muchas menores concentraciones que ésta.-

Está presente prácticamente en todas las células vivientes. Fue primeramente aislada de los glóbulos rojos por Warburg y Christian(3) en 1935. Estos investigadores centrifugaban glóbulos que luego hemolizaban con agua y arrastraban de allí las proteínas con agregado de acetona. Posteriormente precipitaban la codehidrogenasa II como sal de bario, de mercurio o plomo. Esta sal era disuelta en una mezcla de ácido clorhídrico-metanol y precipitada por último con acetato de etilo. Parece plausible el postulado de Warburg y Christian, de que la codehidrogenasa II tiene el poder de sintetizar la codehidrogenasa I y que la célula viviente es capaz de sintetizar ambas codehidrogenasas a partir del ácido nicotínico. También se ha postulado que la célula viviente convertía la codehidrogenasa I en codehidrogenasa II, por esta razón ambas coenzimas se encuentran juntas.-

Es notable que la ración de las cantidades de las 2 codehidrogenasas pueden variar considerablemente en diferentes orígenes; mientras la levadura contiene pequeña cantidad de codehidrogenasa II, el tejido animal contiene 40-80 γ por gramo.-

Propiedades:

La codehidrogenasa II es una sustancia incolora, perfectamente soluble en agua, insoluble en los solventes orgánicos. Se diferencia en este último caso en que es soluble en solventes orgánicos en presencia de ácido clorhídrico por ej: metanol- ácido clorhídrico.-

Exhibe las mismas características de las bandas de absorción a  $260 m\mu$  como la codehidrogenasa I.- El máximo de absorción típico de la dihidrocodehidrogenasa es  $340 m\mu$ .- Recientemente se ha demostrado también una fluorescencia característica cuando se irradia con luz ultravioleta. Esta fluorescencia es característica y no la tiene la codehidrogenasa I.-

La luz ultravioleta destruye rápidamente ambas codehidrogenasas.-

La codehidrogenasa II es inestable en solución alcalina pero muy estable en solución ácida.-

En tejido muscular aislado es rápidamente inactivada.-

La codehidrogenasa II es ópticamente activa.-

$$\left[ \alpha \right]_{589 m\mu} = -24,6^{\circ} \quad , \quad \left[ \alpha \right]_{546 m\mu} = -29,4^{\circ} \quad (2)$$



ESTABILIDAD DE LAS CODEHIDROGENASAS I Y II

<u>Forma de la coenzima</u>	<u>Tratamiento</u>	<u>Codehidrogenasa I</u>	<u>Codehidrogenasa II</u>
Forma oxidada	0.1 N HCl a 100° C.	50% destruida después de 8' (4)	50% destruida después de 7.3' (5)
	0.1 N NaOH	50% destruida después de 17' (4)	50% destruida después de 12' (5)
Forma reducida.	0.1 N HCl 20° C	La actividad desaparece (4) inmediatamente (6)	La actividad desaparece inmediatamente (7)
	0.1 N NaOH a 100° C.	Ligeño descenso después de 10' (8)	
	0.1 N NaOH a 20° C.	Estable (8)	Estable (7)

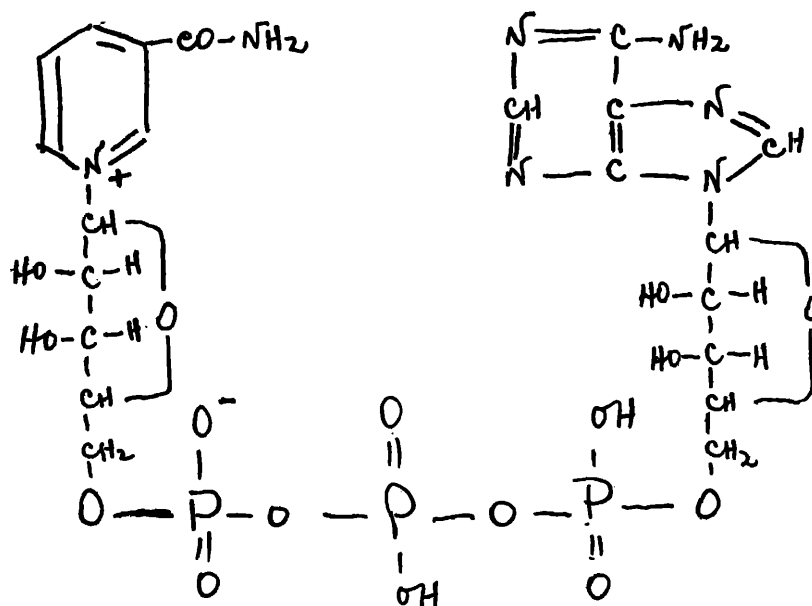
Constitución.-

La codehidrogenasa II no ha sido aislada en forma pura. La probable fórmula empírica es:  $C_{21}H_{29}N_7O_{17}P_3$ .- Esto corresponde a una molécula de adenina, una de nicotinamida, 2 moléculas de pentosa (probablemente d-ribosa) y tres moléculas de ácido fosfórico.-

La codehidrogenasa II, parece de este modo diferir de la codehidrogenasa I solamente en un grupo fosfórico adicional. La adenina y la nicotinamida han sido aisladas de productos destruidos de esta coenzima.-

La codehidrogenasa II es dibásica y por lo tanto los resultados de las determinaciones de la electroforesis establecen dos diferentes constantes de disociación:  $pK_1 = 1.8$  y  $pK_2 = 6.1$ . (2).-

Los estudios de Warburg y Christian (9) en 1936, propusieron una estructura parcial para la codehidrogenasa II, pero Euler y Schlenk (10) sugieren la siguiente fórmula sobre la base conocida de la coenzima.-



Esta fórmula no puede aceptarse definitivamente como exacta. Se ha sugerido que los grupos ácido fosfóricos están unidos al ácido adenílico.-

Adler y Elliot (11) han encontrado que la codehidrogenasa I puede ser convertida en codehidrogenasa II, ello parece, ya que la ubicación del ácido fosfórico es una cuestión que no ha sido establecida.-

La transformación ha sido efectuada por diferentes métodos. Estos métodos sintéticos consisten en la adición de un mol de ácido fosfórico a la codehidrogenasa I, pudiendo aparecer la fórmula propuesta para la codehidrogenasa II conteniendo 3 grupos fosfóricos en un lugar distinto al propuesto.-

Otro detalle a tenerse en cuenta es que la codehidrogenasa II no tiene aparentemente el grupo amino libre por el hecho de no reaccionar con nitrito.-

#### Síntesis:

Muchos investigadores han tratado de sintetizar ambas codehidrogenasas. La codehidrogenasa II ha sido sintetizada a partir del ácido nicotínico o nicotinamida por acción de las células nucleadas "in vitro".-

También han tratado aparentemente desintetizarla de la codehidrogenasa I por fosforilación basado en que el producto obtenido mostraba las mismas propiedades que la codehidrogenasa II en el ensayo para el éster de Robinson.- La conversión ha sido realizada en presencia de oxiclорuro de fósforo en éter por fosforilación enzimática.-

#### DETERMINACION DE LA CODEHIDROGENASA II

No hay método físico bueno, y los métodos químicos son de poco valor.- El método bioquímico es el más importante y se realiza según la técnica de Warburg, por comparación de la codehidrogenasa II y su dihidro forma con una preparación "Standard" de la coenzima en un sistema en el cual deshidrogena la hexosa monofosfórica (éster de Robinson). La adición a la codehidrogenasa de la apoenzima específica y el fermento amarillo son también necesarios.-

C A P I T U L O IV.

ACIDO NICOTINICO Y DERIVADOS

Avitaminosis, Uso en terapéutica, Metabolismo, Necesidades, Importancia biológica.-

Un gran número de ensayos se han realizado sobre animales con el fin de determinar la toxicidad del ácido nicotínico y su amida. A las conclusiones que se han arribado, es que el ácido nicotínico y su amida, son sustancias muy poco tóxicas.- Los inconvenientes surgidos en la administración de dicho ácido, particularmente por vía paraentérica, se deben casi exclusivamente a la acidez libre que presenta, cuando no está totalmente neutralizado como sal sódica.- A estas conclusiones llegaron Elvehjem y Chen y aconsejan usar soluciones inyectables cuyo pH determinado sea igual a 7.-

La dosis letal del ácido nicotínico como sal sódica para el ratón, es de 4 a 7 g. por kilogramo de peso. La amida es aún más activa, y la dosis letal para el mismo animal es de 2 a 3 g. por kilogramo de peso. Los síntomas no específicos de estas dosis paraentéricas no se debe a una acción tóxica de la sustancia, sino a trastornos osmóticos causados por las soluciones empleadas.-

También los conejos y perros toleran altas dosis de ácido nicotínico. Los perros aceptan durante un tiempo prolongado 2 g. de ácido nicotínico por kilogramo de peso. El índice terapéutico (relación entre la dosis terapéutica y la dosis tóxica mínima) es de 1: 1000 a 1: 2000 en todas las especies estudiadas. El ácido nicotínico, como su amida son entonces, sustancias completamente atóxicas, que se pueden emplear también en el hombre a dosis altas, sin preocupación alguna. Es notable sin embargo, que la administración del ácido nicotínico, tanto libre, como en forma de sal sódica, puede provocar ciertos tras-

trastornos secundarios, transitorios, que consisten en una rubicundez rojiza de la piel, limitada casi siempre a la mitad superior del cuerpo y acompañada por un aumento de la temperatura cutánea, con sensación de congestión de la cabeza, además hay prurito y picazón intenso. A estos trastornos se asocian un aumento del peristaltismo, aceleración de la evacuación del estómago, hiperacidez y poliuresa. La nicotinamida no presenta estos inconvenientes (1). Los trastornos secundarios no revisten ninguna importancia y desaparecen al cabo de media hora. Si bien la nicotinamida no presenta estos trastornos, puede también evitarse administrando ácido nicotínico simultáneamente con glicocola.-

Avitaminosis: La débil deficiencia de ácido nicotínico carece de sintomatología clínica en el hombre, se desarrolla tardíamente para evidenciar un diagnóstico definido.-

En casos severos el nivel sanguíneo de ácido nicotínico está disminuido. Esto es frecuentemente observado en mujeres embarazadas con dietas bajas en ácido nicotínico, haciendo que durante el embarazo aumente las necesidades de esta vitamina. Otro síntoma relativamente temprano de deficiencia, es la excreción de porfirinas en la orina.-

Los síntomas típicos de deficiencia de ácido nicotínico en el hombre, son comúnmente agrupados en el término "Pelagra". La típica pelagra nos muestra lesiones características de las membranas mucosas, por ejemplo en la boca, glositis, de la piel sobre la nariz, frente, espalda, manos, muñecas, codos, rodillas y pies.- Este tipo de dermatitis implica especialmente todas aquellas partes del cuerpo las cuales están expuestas a la luz del sol o a fricción (2).-

Predominan trastornos intestinales, sobre todo inflamaciones, ulceraciones y pigmentaciones de la lengua, de la mucosa bucal y del esófago, así como diarreas y anemia; además, se presentan trastornos

nerviosos centrales poco característicos. En cuanto a la relación entre frecuencia y estaciones, la propagación geográfica y el sustrato anatómico, la pelagra humana y el black-tongue son absolutamente idénticos.-

Ni la pelagra humana, ni el black-tongue son avitaminosis puras, por carencia de ácido nicotínico sólo, sino complicadas, por un aporte insuficiente de otros factores del complejo B, en particular de lactoflavina y de los factores antianémicos.- Ellos explica, que los síntomas mas esenciales de esta enfermedad, en particular los bucales y gastrointestinales, desaparecen rápida y completamente, o pueden prevenirse en perros sometidos a una dieta pelagrógena, por el ácido nicotínico, siendo la dosis profiláctica mínima de 0.5 mg. por Kg. por día. Una curación total en cambio, de la anemia, astenia, detención del crecimiento, se consigue solamente administrando, además del ácido nicotínico, lactoflavina, o de preferencia, en lugar del ácido nicotínico, extracto hepático integral, que contiene todos los factores B (3).-

Entre las numerosas formas clínicas de la avitaminosis, la pelagra predomina por su amplia generalización y su importancia práctica. Entre los investigadores norteamericanos, Vilter-Vilter-Spiss (4) han podido demostrar que una curación definitiva de la pelagra es posible solamente cuando se administra, además del ácido nicotínico, los otros factores parciales del complejo B, por lo menos la lactoflevina y la adenina. Lo mismo vale para la pelagra del perro, el black-tongue, en la que puede intervenir, además, una carencia de carétina, mientras que con la pelagra del hombre, no raras veces se combina una avitaminosis H.-

Para formarse un concepto de la etiología del caso aislado, deben distinguirse dos clases de pelagra: la verdadera pelagra primaria, debida directamente a una dieta cualitativamente deficiente, siendo así una verdadera avitaminosis, y la pelagra secundaria, en la que el apr-

te de vitamina del complejo B es suficiente, pero se halla inhibida la resorción por una enfermedad intestinal. Solamente en el primero de los casos sirve la terapéutica peroral por ácido nicotínico o extracto hepático.-

La pelagra primaria está muy difundida en los estados meridionales de EE.UU. y en Rumania, donde anualmente causaba miles de víctimas, antes de la introducción del tratamiento por ácido nicotínico; además en Italia, sur de Rusia y Yugoslavia, mientras que los casos encontrados en la Europa Central son mayormente de carácter secundario. Así se han observado entre nosotros casos de pelagra como complicación en enfermos de colitis, carcinoma gástrico o intestinal, tuberculosis intestinal, íleo, disentería, trastornos biliares, úlceras gástricas o duodenal y consecutivos a operaciones gástricas o intestinales.-

Asimismo, la pelagra de los alcoholistas, difundida en Alemania Suiza, Rumania y EE.UU., es una forma secundaria de avitaminosis originada por los trastornos digestivos y la inapetencia debidos al alcoholismo crónico. Una forma secundaria especial, asociada a atrofia ósea y trastornos endócrinos, en particular de la función de la suprarrenales, es el síndrome de Freiburg, evidentemente una forma intermedia entre pelagra y sprue, no tropical o enfermedad celíaca. En todos estos casos se recomienda el empleo del ácido nicotínico.-

Son varias las transiciones entre la pelagra y la sprue, que se diferencia en lo esencial de la pelagra por el predominio de los fenómenos gastrointestinales, unidos a una esteatorrea pronunciada y a anemia hipercrómica, hallándose en último término los síntomas cutáneos y nerviosos. En la sprue, la estomatitis y la glositis son generalmente más pronunciadas que en la pelagra, y en aquella falta el principio antipernicioso del hígado, lo mismo que en la ane-

nia perniciosa verdadera (5)

Hipervitaminosis: La administración de alrededor de 1000 veces la cantidad normal de ácido nicotínico consumida en la alimentación, puede ser considerada como relativamente no tóxica. Mayores dosis exhiben síntomas toxicológicos típicos.-

Se ha ensayado en perros, dando una dosis de 2 gramos diarios de ácido nicotínico, y murieron a los 20 días aproximadamente.-

En humanos, siendo la administración oral mayor de ácido nicotínico, es seguida casi siempre por un sonrojo de la piel, piel ardiente, comezón, prurito y aumento de las sensaciones de calor local. La nicotinamida no produce estos síntomas, y es por lo tanto recomendada para el uso en clínica (2).-

Uso en terapéutica.- Hay en el curso de los últimos años gran cantidad de trabajos sobre la aplicación del ácido nicotínico y su amida, para la cura de la pelagra. Ello se debe a que el problema de la pelagra ha sido siempre uno de los factores que indujeron a la aplicación de algún método para solucionar este mal que abarca grandes zonas del mundo. No trataremos aquí al ácido nicotínico y su amida como factor antipelagroso, sino bajo los distintos aspectos de sus múltiples aplicaciones. En primer término mencionaremos el uso constante que aplican los médicos en nuestros días. El ácido nicotínico y su amida muestran un aumento del margen de tolerancia de la sulfanilamida en el organismo, y también permite al médico prolongar un tratamiento, dando lógicamente cantidades de sulfanilamida mayores que las regulares.- (6)

La administración de nicotinamida o ácido nicotínico no tiene acción sobre el metabolismo normal de la glucosa, ni sobre la curva de tolerancia en individuos en ayunas.(7). Cuando el metabolismo de los individuos ha variado, está enfermo, a menos de otra medicación como



la adrenalina, insulina, etc., el ácido nicotínico y su amida dado subcutáneamente produce un descenso de la glucosa de 10 a 45 mg.%. con sólo 100 mg. de nicotinamida. Comparando este efecto con la hipoglucemia insulínica, el ácido nicotínico tiene una acción más suave y prolongada (8).-

En diversos trastornos, intestinales, diarreas y constipaciones, el ácido nicotínico es un buen medio para combatirlo (9); sobre todo en los casos en que con otra medicación no cede.-

También determina una mejoría del tono gástrico, acelerando el peristaltismo y favorece la evacuación. En los vómitos habituales de los lactantes, el ácido nicotínico está indicado, especialmente en aquellos casos de atonía gástrica comprobada radioscópicamente. Después de un tiempo de suministrar el medicamento, por lo general pocos días, continúa normalmente las funciones gástricas, aun cuando se suspenda (10).-

En oftalmología para bajar la tensión arterial de la retina, no existiendo proporción con el cambio registrado en la arteria humeral y la arteria central de la retina (11).-

En los delirios alcohólicos, el ácido nicotínico demuestra una acción importante, con rápida transformación en el cuadro mental y del estado general (12).-

En la esclerosis múltiple, asociada a la vitamina B<sub>1</sub>, va seguida de una evidente y continuada mejoría subjetiva y objetiva (13).o

En las aftas bucales y estomatitis aftosas, el ácido nicotínico, y su amida por vía oral, cura con carácter definitivo administrando dosis pequeñas. Sus efectos podrían explicarse por reparación de la carencia vitamínica o por acción tópica al eliminarse con las salivas (14).- En los estados anémicos en general. En estos casos se constata no solamente un aumento de glóbulos rojos, sino también un aumento proporcional de hemoglobina; la anemia se debe a una deficien-

cia de ácido nicotínico, y se sugiere que se desarrolla por carecer de coenzima necesaria para la respiración de los eritrocitos inmaduros (15). En conejos se ha comprobado la formación de anticuerpos, cuando se han infectado por el Vibrión del Cólera. Hay un aumento del índice de inmunidad en el suero (16).-

El ácido nicotínico se utiliza para aumentar el Factor V o Codehidrogenasa I en la sangre. La nicotinamida tiene una acción más débil que el ácido (17).-

Además en las vaginitis, estomatitis, uretritis y proctitis, el ácido nicotínico hace ceder el eritrema dentro de las 24 a 48 horas. En los estados depresivos, desde la torpeza al estupor, el ácido nicotínico ha dado excelentes resultados.-

En las cefaleas de origen vaso-espasmódico, el ácido nicotínico alivia rápidamente los dolores de cabeza, por la vasodilatación cerebral que produce (18).-

Evidentemente la importancia del ácido nicotínico y su amida en la terapéutica actual llega muy lejos, que en el presente trabajo se han bosquejado los usos perfectamente comprobados y diarios. Su importancia es fundamental de acuerdo con el criterio clínico de los actuales médicos.-

#### METABOLISMO.- PRESENCIA

Necesidades de vitamina PP. Sus distintas transformaciones en el organismo. Importancia biológica.-

En la dieta vegetal y animal normalmente administrada, el ácido nicotínico y su amida se halla presente y en su mayor parte se encuentra al estado de coenzimas. Se supone que el organismo desintegra estas coenzimas en el tractus digestivo, pero no se conoce aún si las coenzimas pueden ser asimiladas como tal, o si ellas son previamente hidrolizadas antes de su asimilación. Lo único realmente cierto es que el ácido nicotínico y su amida se absorben inalterados. En el ca-

so particular del ácido nicotínico el organismo se encarga de su amida-  
ción en el torrente sanguíneo.-

El ácido nicotínico y su amida son transportados en el suero san-  
guíneo, manteniéndose en él un cierto nivel, supuesto esencial, pero  
sin estar como enzimas. Los glóbulos rojos y otros órganos vitales  
contienen relativamente altas cantidades de coenzimas, pero no libre  
de nicotinamida.-

No hay órgano especial de almacenamiento para el ácido nicotínico  
y sus derivados. En forma de coenzima el ácido nicotínico está practi-  
camente presente en todas las células. La deficiencia en el perro y  
cerdo está vinculada a la cantidad de coenzimas existente en hígado  
y músculo, pero no tiene ninguna variación en el cerebro, corteza re-  
nal y sangre. En el hombre la deficiencia se manifiesta por un bajo  
nivel en los músculos estriados, pero muy escasamente en los glóbulos  
rojos de la sangre.-

Todos los productos finales metabolizados del ácido nicotínico  
y sus derivados, son eliminados totalmente por vía urinaria. Una cier-  
ta cantidad es excretada en forma libre. La coenzima no se elimina.-

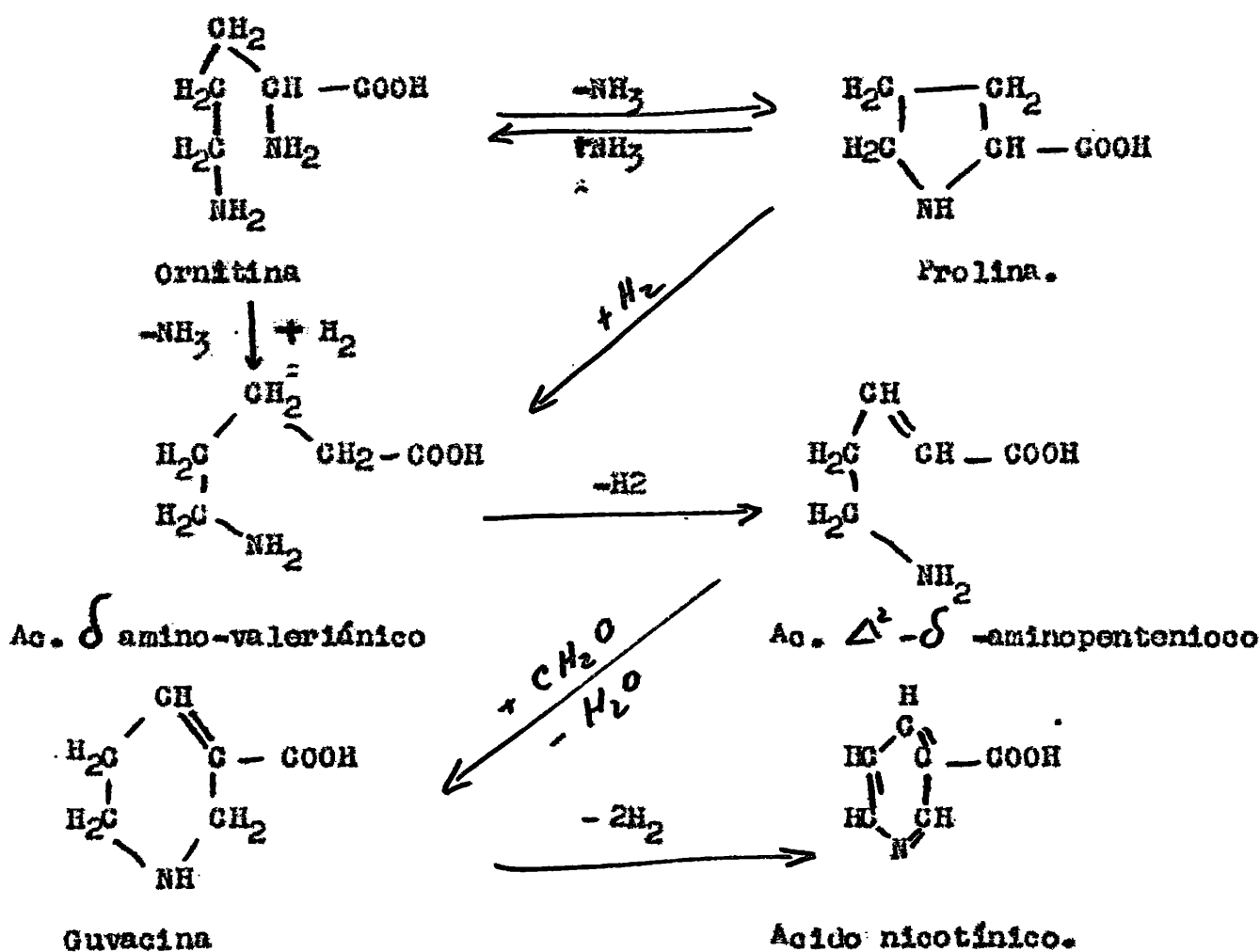
La ingestión de ácido nicotínico da por metabolismo cantidades  
considerables de ácido nicotínúrico y trigonelina que son excretadas.  
Hay además aparentemente una forma combinada de ácido nicotínico en  
la orina, la que puede ser diferente del ácido nicotínúrico. La pro-  
ducción total depende de la administración. Normalmente son excreta-  
dos por día de 4 a 5 miligramos. Los valores inferiores han sido ob-  
servados en pelagrosos y durante tiempo de anorexia. En los cerdos  
de Guinea el valor del ácido nicotínico eliminado va en progresivo  
descenso, hasta un valor igual a cero, cuando se desarrollan los sín-  
tomas clínicos de deficiencia. El perro elimina solamente ácido nico-  
tinúrico y trigonelina, pero no ácido nicotínico o su amida. Los co-

nejos y otros animales, no pueden sintetizar trigonelina, a partir del ácido nicotínico.-

Biogénesis de Acido Nicotínico.-

No es conocida con exactitud, pero parece estar relacionada con el metabolismo amino-ácido.-

Guggenheim ha dicho que el ácido nicotínico se puede originar a partir de la ornitina o prolina (19). La primera reacción puede ser el ácido  $\delta$  amino-valeriánico.-



Ackermann (20) predijo en 1910 la teoría biogénica del ácido nicotínico que presentó Guggenheim en 1940, pero aquel se refería a la biogénesis en cultivos bacterianos, pero nunca pudo probarse en los vegetales.-

Aparece con función principal, el ácido nicotínico, como parte de enzimas y es la parte activa que tiene en el metabolismo de las proteínas y carbohidratos, transportando hidrógeno.-

En el nacimiento, los mamíferos contienen pequeñas cantidades de nicotinamida-coenzimas I y II; de 100 a 150 gamas en el hígado o en el riñon de ratas, pero la cantidad asciende rápidamente y llega al rango normal de los adultos, alrededor de 550 gamas en ratas en 7 días.-

Puede aumentar la cantidad normal de ácido nicotínico en la sangre durante la retención de agua, pero se debe al metabolismo anormal hídrico. Ninguna definición puede darse a esta razón, ya que no existen bases de factores experimentales, como para que esta acumulación de ácido nicotínico sea explicada (2).-

La cantidad de ácido nicotínico que poseen algunos alimentos, se consignan en la siguiente tabla:

100 gramos de:	Miligramos de ácido nicotínico. por 100 grs. de sustancia.
<u>Carnes</u>	
Carne gallina.	+
Carne bovina.	5
Hígado bovino.	12-25
Carne de cerdo	3
Riñones bovinos	++
Músculo de corazón.	+

<u>Pescados</u>	
Arenques	3
Bacalao	2
Huevos de bacalao	1.5
Salmón	6
Merluza	+
<hr/>	
<u>Leche Huevos</u>	
Leche	0.4
Polvo de leche desnatada	10
Huevos gallina	+
Yema de huevo	+
<hr/>	
<u>Cereales</u>	
Arroz integral	2
Salvado de arroz	+ +
Maiz	1
Trigo	1
Salvado de trigo	5
Germen de trigo	+
Mijo	1.8.
<hr/>	
<u>Verduras</u>	
Papas	1
Colinegro	+
Apinacas	1
Zanaborias	= Vestigios.
Guisantes	1
Nabo	+
Remolacha	1
Lechuga	= Vestigios.
Haba de Soya	5.

<u>Frutas.</u>	
Fresa	-
Tomate maduro	+
Escaramujo	-
Manzanas	0
Peras	-
Bananas	-
<u>Grasas y aceites</u>	
Aceite de germen de trigo	0
"    "    lino	0
"    "    olivas	0
"    "    sésamo	0
"    "    coco	0
"    "    maní	0
Manteca	0
<u>Levadura</u>	
Levadura seca.	57

-: Negativa en determinación.-  
 0: Negativo absoluto.  
 †: Vestigios apreciables.-

Emplicando métodos microquímicos se ha probado la presencia de ácido nicotínico libre en la levadura, salvado de arroz, remolacha blanca y roja y en el hígado bovino. La nicotinamida en hígado y miocardio.- Cozimasa, de la cual la nicotinamida se forma en el proceso de la digestión, se comprobó en levadura, carne de los músculos, cerebro, hígado, riñones, glóbulos rojos y rotos vegetales.-

Sebrell ha clasificado los alimentos de acuerdo al contenido de vitamina PP y la acción curativa de los alimentos en la pelagra.-

Alto contenido en vitamina PP

Carne de bovino, cerdo, pollo, conejo, salmón, bacalao, hígado de cerdo, (todos también como conservas) leche natural y suero, col rizada, arvejas, (conservadas).-

Contenido regular.-

Yema de huevo, haba de Soja, espinaca, chauchas, (judías verdes) leche desnatada, leche condensada.-

Contenido escaso.-

Mantequilla, trigo (granos enteros), porotos rojos, ensalada, cebollas verdes, colinabo, zanahorias.-

Contenido nulo.-

Harina de maíz, avena arrollada, harina de centeno, tocino, aceites, cebollas, patatas, manzanas, ciruelas (secas).-

Clark afirma que mucha vitamina antipelagrosa pueden encontrarse en los dátiles maduros y semillas de trigonela.-

Es notable que la comprobación biológica no da siempre los mismos resultados en el hombre y el perro. La leche y harina de arvejas no ejerce acción antipelagrosa en el "black-tongue" del perro, mientras que en el hombre acusa un marcado poder curativo. La causa de este fenómeno no ha sido aclarada aún, pero es fácil suponer que el factor PP, no solamente es el ácido nicotínico, siendo este el esencial.-

Es de importancia que la determinación biológica del factor PP en los alimentos que rinde valores útiles, solamente cuando la dieta del animal no contiene maíz o sus derivados, ni sémola de trigo; ambos alimentos contienen sustancias pelagrogénas que inactivan el factor PP en el organismo, aumentando el requerimiento del mismo. Un gran aporte de maíz y de sémola es capaz de anular completamente la acción antipelagrosa de ciertos alimentos que de por sí contienen cantidades suficientes de factor PP, de manera que podría producirse una e-



quívocación con respecto al contenido de estos alimentos en factor antipelagroso(1).-

No existen todavía datos exactos sobre el requerimiento diario del hombre en vitamina antipelagrosa; en forma aproximada, este se puede calcular por las cantidades de ácido nicotínico necesarias para mantener en buena salud a los amenazados por pelagra, y para obtener una curación definitiva de enfermos pelagrosos. La necesidad del perro permite efectuar ciertos cálculos. Spies, Grant, Stone y McLes-ter(21) dedujeron de los estudios realizados en 200 personas amena-zadas de las zonas meridionales de los EE.UU., cuya nutrición es pelagrógena, que dosis diarias perorales de 100 miligramos de ácido nicotínico son suficientes para evitar la declaración de la pelagra y garantizar un bienestar permanente. Elvehjem, Madden, Strong y Woolley (22) calcularon el requerimiento del mamífero en ácido nico-tínico en 0.5 a 1.5 miligramos por día y kilogramo de peso, basándo-se en estudios de aporte y eliminación. Aplicando esta cifra al hom-bre adulto, la necesidad diaria sería de 50 a 100 miligramos del á-cido nicotínico, lo que corresponde a la cifra indicada por Spies; teniendo en cuenta siempre el carácter provisorio de esta cifra, el mínimo del requerimiento diario del hombre sería 50 miligramos, el óptimo 100 miligramos de ácido nicotínico. Además del hombre y de algunas especies estudiadas hasta ahora, solamente el mono, cerdo, perro, cobayo y paloma, necesitan la vitamina antipelagrosa. La ra-ta y el ratón pueden mantenerse en vida y desarrollo fisiológico con dietas capaces de causar una pelagra grave en el perro y cerdo. Por la presencia del ácido nicotínico, sólo aumenta la cantidad de los alimentos necesarios en la rata, sin que se observara un aumento de peso, correspondiente al aumento de la ingestión de alimentos. Para el desarrollo fisiológico de la rata no es necesario, por lo tanto, el ácido nicotínico, ni tampoco precisa la vitamina C (Acido

Ascórbico o cevitámico). Conteniendo los órganos cantidades elevadas de ácido nicotínico en forma libre y asociada, la rata parece ser capaz de sintetizar esta vitamina, lo mismo que el ácido ascórbico(1) Huff y Perlzweig han realizado un estudio detallado sobre la síntesis de ácido nicotínico en la rata y han demostrado definitivamente que administrando dietas exentas,, o con pequeñas cantidades determinadas del factor antipelagroso y sus derivados, la eliminación por orina y heces, son muy superiores a las administradas(23). Este trabajo está basado en las determinaciones de Shourie y Swaminathan(24) del año 1940, que habían llegado a la conclusión que las ratas sintetizan el ácido nicotínico, al comprobar el exceso eliminado en orina y excremento, después de ser alimentadas durante un largo período con dietas exentas de factor PP. Huff y Perlzweig (23) han determinado el tenor de ácido nicotínico en músculos, hígado, sangre de las ratas sometidas a la experimentación, y también han manifestado que algunos productos químicos inorgánicos y orgánicos afectan el metabolismo experimental del factor antipelagroso. En suma, manifiestan que el producto final eliminado por la rata, es la trigonelina, y que la rata adulta de 250 a 300 g. elimina alrededor de 120 gamas de ácido nicotínico como trigonelina con la sola administración de 7 gamas diarias. Esta eliminación está fraccionada de un 25 a 75 gamas en orina y de 40 a 90 gamas por las heces.-

Dann y Kohn (25) nos demuestran por las determinaciones de las coenzimas en los tejidos, que las ratas son capaces de sintetizar coenzimas y ácido nicotínico, por sí mismas, con bajas dosis de factor PP en sus dietas.- Guggenheim (19) en la segunda edición de su monografía postula la hipótesis ya explicada anteriormente, sobre la biosíntesis del ácido nicotínico, a partir de la ornitina o prolina. Esta hipótesis suministra una general aproximación al problema del metabolismo experimental en ratas. Dann (26) ha hecho un trabajo muy

completo acerca de la síntesis del ácido nicotínico, haciendo previamente una crítica al método usado por Shourie y Swaminathan. Dann ha pensado que su problema inmediato, era anular los microorganismos del tractus digestivo de la rata con sulfaguanidina agregada a la dieta, pero llega a la conclusión que la síntesis se realiza dentro del cuerpo de la rata, y que no tiene parte la actividad simbiótica de los microorganismos intestinales.-

György (27) dice que la rata sometida al régimen modificado por Goldberger, desarrolla una panmielotisis, que puede prevenirse con agregado de ácido nicotínico; esta observación contrasta con la experiencia sólida de que las ratas se desarrollan normalmente con una dieta libre de ácido nicotínico, pero aún falta comprobarla.-

La importancia biológica general del ácido nicotínico puede deducirse del hecho, que hasta los organismos primitivos lo necesitan para el crecimiento y desarrollo normal; el ácido nicotínico y su amida es uno de los importantes factores de crecimiento de los microorganismos, por ejemplo del *Staphylococcus aureus* (Knight, Landy, Iwoff) (28,29), *Shigella paradysenteriae* (Koser & Dorfman-Saunders) (30), bacilos de Loeffler (Muller), *Lactobacillus arabinosus* (Snell-Strong) (31,32), *Proteus X 19* (Iwoff-Querido) (33). El aumento del crecimiento se debe a una activación del metabolismo glucídico de las bacterias y plantas.-

La acción del factor antipeagroso en los mamíferos superiores se debe en parte a un proceso similar. El ácido nicotínico asociado en forma de piridina-nucleósido interviene, en colaboración con la lactoflavina, en una serie de procesos parciales del catabolismo glucídico, pasando el hidrógeno de ciertos productos glucídicos intermedios a la enzima diaforasa que contiene lactoflavina. La función principal de la coenzima (Codehidrogenasa I) es la continuación de la oxidación de las sustancias, que se encuentran en la primera fase del catabolismo glucídico, o sea los fosfatos de hexosa y triosa. La codehidrogenasa II, en

cambio, interviene en otra fase no menos importante del catabolismo glúcido, o sea en la transformación de hidratos de carbono en albúmina (34).-

La función del ácido nicotínico no se limita a la intervención de las cohidrogenasas en el metabolismo glúcido, sino abarca dos terrenos más del metabolismo, el de los pigmentos (porfirina), y la asimilación de las albúminas alimenticias. Pérdida de hierro y porfirinuria son dos trastornos metabólicos característicos de la pelagra. Altas dosis de hierro solas mejoran los síntomas de la pelagra sin tratamiento dietético. Mediante la exclusión de hierro puede ser provocado, en ratas, un síndrome completamente idéntico a la pelagra. Hay un paralelismo absoluto entre la intensidad de la porfirinuria y la gravedad de la pelagra. Los síntomas de la porfirinuria pelagrosa se asemejan a los de las porfirinurias idiopáticas y tóxicas en muchos aspectos, sobre todo por el hecho de que se ponen de manifiesto o empeoran a veces por la luz solar.-

En la pelagra, la porfirina eliminada con orina es una mezcla de coproporfirina I y III (en parte en forma de porfirinógenos). Ello demuestra, que la porfirinuria no se debe a un aumento de desdoblamiento de la hemoglobina, sino a un trastorno de la síntesis de la misma. Dosis perorales de ácido nicotínico, no solamente suprimen la porfirinuria pelagrosa, dentro de uno a dos días, sino también las tóxicas y las que se presentan en afecciones hepáticas y en la diabetes (35). Esta acción curativa y la coexistencia en pelagra de anemia, pérdidas de hierro y porfirinuria, indican que el ácido nicotínico en el hombre, es indispensable para la formación de la hemina. La causa del trastorno de la síntesis de la hemina, consistente en un aumento de la formación de porfirina, debido a la carencia del ácido nicotínico, es una lesión específica del hígado comprobado por Rhoads y Miller (36), en el perro, y considerada como probable en el

hombre, por Spies, Sasaki y Gross (37). Llama la atención la manifestación casi obligatorias de lesiones hepáticas en la pelagra. Sin embargo en la avitaminosis por ácido nicotínico se asocian a la porfirinuria otros trastornos del metabolismo pigmentario, difíciles de interpretar. En la orina de enfermos de pelagra, Watson (38) logró aislar en forma cristalina, además de la coproporfirina III, un pigmento rojo, que probablemente es idéntico al rojo de añil, la indirubina, y que desaparece administrando ácido nicotínico. Conservando con toluol, la orina, de enfermos de pelagra o estomatitis, este pigmento se fija al toluol y lo tinte de rojo.-

La segunda función biológica principal de la vitamina antipelagrosa, reside en el hecho de que su presencia es indispensable para la asimilación normal de las albúminas en el organismo.-

Desde hace siglos se conocen las frecuentes epidemias de pelagra en las regiones cuya población se alimenta de maíz o de sémola de trigo, sucediendo esto especialmente en Moravia, siendo estas las únicas fuentes de albúmina. No se ha podido comprobar la teoría, de que esta enfermedad se produzca por una acción tóxica de sustancias acompañantes de la proteína, las llamadas toxaminas. La acción tóxica se debe mas bien a la misma albúmina. Por alimentación de perros con gliadina (la proteína de la sémola de trigo) se ha podido provocar espasmos y alteraciones nerviosas semejantes a las pelagrosas; para las ratas, en cambio, la gliadina no es tóxica. Armoniza con ello que la sustancia antipelagrosa es indispensable para el perro, pero no para la rata. Del complejo B presente en el hígado y levadura se ha podido elaborar una vitamina desintoxicante de la albúmina que se distingue de la vitamina B<sub>6</sub>, hemogen y vitamina H, poseyendo en cambio todas las propiedades de la sustancia antipelagrosa. Por lo tanto, esta es indispensable para la asimilación fisiológica de ciertos compuestos proteicos, en particular vegetales, en el organiz-

mo del hombre y del perro; no se conocen sin embargo, su mecanismo de acción. Llama la atención que la porfirinuria y la acción tóxica de albúminas vegetales son reacciones concomitantes. La coincidencia de ambos síntomas no solamente se encuentra en la pelagra, sino también en la intoxicación por porotos (latirismo, fabismo), frecuente en Italia, y en ciertas enfermedades veterinarias (fagopirismo, hipericismo); las manifestaciones se deben al hecho de que con la alimentación se ingieren sustancias tóxicas de carácter de colorantes, que disminuye la asimilación de las albúminas y producen una fotosensibilidad; hoy día, estos se interpretarían como hipovitaminosis relativa de la sustancia antipelagrosa, ya que últimamente se descubrió en el maíz un colorante tóxico de fluorescencia roja, a que se debe la conocida acción pelagrogénica del maíz.

Por último el factor antipelagroso interviene de manera desconocida en el metabolismo del azufre. En la pelagra humana está disminuido el contenido de las uñas en azufre; este trastorno mejora y hasta cura por las inyecciones de tiosulfato. Lo mismo que la verdadera, la pelagra secundaria que se desarrolla por intoxicación crónica al selenio, se favorece por una dieta rica en azufre. Hasta ahora no se ha podido determinar si estos procesos se deben a un trastorno del metabolismo del azufre, específicamente de la carencia del factor PP, quizás por una hipofunción de las suprarrenales, que intervienen en el metabolismo del azufre de manera decisiva, por las lesiones pelagrosas de las suprarrenales, o si se debe a un aprovechamiento deficiente de la cistina (1).-

ACIDO NICOTINICO

Acción farmacodinámica del ácido nicotínico.- El ácido nicotínico tiene sobre el organismo humano distintas acciones, según actúe sobre personas sanas o afectadas por determinadas enfermedades. Dichas acciones se presentarán sumariamente y al mismo tiempo, se hará un estudio sobre los distintos órganos de animales.-

Reacciones en la piel.- En personas sanas y en cardíacos se ha observado que la administración de 50 mg. de ácido nicotínico, al estado de sal sódica, por vía intramuscular, provoca una congestión del tórax, cuello y cabeza, con calor y comezón. El calor local en la piel va en aumento.-

Estos fenómenos aparecen en todos los sujetos, aunque la dosis necesaria para producirlos y el tiempo que tardan en aparecer varía mucho entre distintas personas, a veces en un mismo sujeto de uno a otro día. Esta acción del ácido nicotínico por vía intramuscular puede también producirse con dosis superiores por vía bucal.-

En enfermos pelagrosos estas reacciones son de menor intensidad. El máximo aumento de la temperatura cutánea se observa en las orejas, cara, cuello, siendo menos pronunciado en el tronco, y menor en las extremidades. El mayor aumento de la temperatura a nivel de la cara llega a 1 1/2° C. Esta elevación de temperatura es mayor, donde los cambios subjetivos y objetivos son más francos. El enrojecimiento y flucción son marcados en las orejas, pómulos, cara y cuello. Frecuentemente la distribución por el tronco es irregular, y tiende a disminuir en el abdomen y extremidades. Algunas veces ha flucción acentuada en el periné y ambas regiones axilares, asociado con sensación de aumento de calor y picazón. En las mucosas y en la lengua no se observan cambios. En pocos casos se pueden observar sudoración, especialmente en la cara y en axilas.- La piel, luego de

la flucción aparece más brillante. Efectos similares se producen con la administración por vía endovenosa de 5 a 25 mg. de ácido nicotínico en solución fisiológica.-

La flucción, las nauseas, los vómitos y los cólicos intestinales que siguen a la administración de ácido nicotínico, hace pensar que tuviera una acción parasimpática, como la que produce el grupo químico de la acetilcolina. Sin embargo Chart demostró que las reacciones producidas por la inyección intraarterial de acetilcolina, no son idénticas a la del ácido nicotínico utilizado por la misma vía. El ácido nicotínico continúa teniendo efecto general, demostrando esto que no es destruido o inactivado totalmente en los capilares, como pasa con la acetilcolina. En ambos casos hay un aumento de la temperatura cutánea de 1 a 2 °C, en el miembro que recibe la inyección. El ácido nicotínico determina una acción similar a la histamina, cuando es inyectada por vía subcutánea, aunque la acción local es menor que la producida por la histamina.-

#### Acción sobre el tractus gastrointestinal.-

Muchas personas se quejan de nauseas y dolores en epigastrio después de la administración de pequeñas dosis de ácido nicotínico. Los vómitos y epigastralgias son más frecuentes después de la inyección endovenosa, que por vía bucal; en la mayoría de los casos los vómitos aparecen cuando el ácido nicotínico se administra con el estómago vacío. Si se observan radioscópicamente, con comida de contraste, se ve un aumento de las contracciones y profundidad de los movimientos peristálticos del estómago. El tono gástrico aumenta en forma visible en unos sujetos, y en otros no acontece nada. Lo mismo ocurre con el ácido clorhídrico, que no se modifican en unos casos y en otros sí, habiendo franca hiperclorhidria; sin embargo este aumento de acidez no es tan grande como el que produce



en el mismo enfermo 1 mg. de histamina (39-40-41).-

Sobre intestino aislado de conejo, utilizando la técnica de Magnus, se han hecho experiencias sobre tiras de duodeno. El ácido nicotínico como sal sódica al 1/10.000 y 1/5.000 aumenta la amplitud de los movimientos pendulares. En concentraciones de 1/2000, 1/1000 y 1/500 producen efectos inconstantes, a veces disminuyen la amplitud, pero por lo general la aumentan; a veces la amplitud de los movimientos pendulares va acompañado de aumento de tono. La nicotinamida por lo general se muestra inhibitoria de los movimientos pendulares; en concentraciones de 1/2000, 1/1000 y 1/500 lo es siempre. Al 1/10.000 y 1/5.000, la nicotinamida tiene efectos inconstantes, observándose aumento o disminución de los movimientos citados.-

En algunos casos en concentraciones convenientes se ve un antagonismo entre las acciones del nicotinato de sodio y la nicotinamida, de manera que el efecto inhibido de esta última es contrabalanceado por el excitador del primero y viceversa.-

El Dr. Litter ha estudiado el intestino de perro "in situ" con la técnica de Jackson. Se estudiaron las modificaciones de la motilidad del intestino delgado y del colon del perro. Se observa un ligero aumento de la motilidad del intestino delgado por acción del nicotinato de sodio a dosis de 0.50/kg.; dosis inferiores (0.002 a 0.25g./kg.) fueron inactivas. La nicotinamida por su parte se manifiesta inhibitoria a dosis de 0.25 g./kg., produciendo ya sea disminución de los movimientos y del tono, ya sea de este último solamente. Dosis inferiores son inactivas. En cuanto a las acciones del intestino grueso, el nicotinato de sodio produce un aumento de motilidad a las dosis de 0.10 y 0.20 g./kg., siendo ineficaz a dosis menores. La nicotinamida no tiene acción a dosis comprendidas entre 0.002 y 0.20 g./kg.-

empleando ácido nicotínico en constipados sin pelagra y sin enfermedad orgánica gastrointestinal se observa en algunos casos una sorprendente normalización de la función evacuatriz.-

La absorción del ácido nicotínico que se administra por vía bucal, se realiza en el intestino, pero una alteración de la función gastrointestinal como el caso que relata el Dr. Mahomed Abdo Abassy del Cairo quien encuentra en sus pelagrosos severos trastornos gastrointestinales causados por parásitos, entre los cuales el Schistosoma Mansonii y el Anquilostoma son los más frecuentes. Estos parásitos lesionan tanto el tractus intestinal que impiden la absorción del ácido nicotínico y en esa forma al cuadro parasitario se agrega una pelagra.-

#### Acción sobre el útero.-

En experiencias sobre útero aislado, se emplean cuernos uterinos de cobayas o conejas vírgenes. El ácido nicotínico, como sal sódica y la nicotinamida a concentraciones comprendidas entre 1/10.000 y 1/500 no tienen ninguna acción sobre útero de cobaya. En cuanto a la acción sobre útero de coneja, el nicotinato de sodio 1/5.000 y la nicotinamida 1/1.000 disminuyen el tono de la musculatura uterina.

#### Acción sobre la diuresis:

Se han hecho experiencias en ratas, conejos y perros. Los resultados no han sido idénticos. Se tratará cada uno por separado.-

En ratas, el nicotinato de sodio, como la nicotinamida son diuréticos a dosis comprendidas entre 0.5 y 50 mg. por 100 g. de peso, siendo la amida menos diurética que el nicotinato de sodio.-

En conejos los resultados son distintos, y totalmente negativos con dosis de nicotinato de sodio y nicotinamida que oscilaron entre 0.005 y 0.50 g./kg.-

En las experiencias en perros, se comprueba que el nicotinato de

sodio produce un aumento de la diuresis a la dosis de 0.02, 0.05 y 0.10 g./kg. de peso, aumento que coincide con un aumento de presión arterial, y un aumento del volumen renal, debiendo pues considerarse que dicha acción diurética es secundaria a los fenómenos vasculares citados. En cambio la amida del ácido nicotínico a la dosis de 0.05 y de 0.10 g./kg. disminuye la diuresis produciéndose al mismo tiempo una caída de la presión arterial y a veces una disminución neta del volumen renal. La explicación debe ser la misma que para el caso anterior.-

#### Acción sobre el aparato respiratorio.-

Generalmente hay muy poca modificación de la frecuencia respiratoria, ya se utilice la vía bucal endovenosa, pero puede ocasionalmente aumentarse la frecuencia respiratoria, siendo los movimientos inspiratorios y expiratorios más profundos. El consumo de oxígeno varía en forma irregular, produciendo en algunos sujetos un franco aumento durante el período máximo de la fluctuación.-

#### Acción sobre el aparato cardio-vascular.-

Acción sobre corazón aislado de sapo.- Empleando la técnica de Straub-Fuhner. El nicotinato de sodio al 1/10.000, 1/5.000 y 1/500 produce un aumento de la amplitud de las contracciones cardíacas y a veces ligera bradicardia; al 1/1000 produce ligera disminución de la amplitud; la nicotinamida al 1/5000, 1/2000, 1/1000 y 1/100 produce aumento de amplitud y también algunas veces discreta bradicardia. El corazón detenido por la acción de una solución de ácido nicotínico al 1/2000 (pH = 4.1- acción de la acidez) vuelve a latir por la acción de la nicotinamida al 1/100.-

Acción sobre el corazón "in situ".- Utilizando el método de suspensión se efectúan las experiencias. El nicotinato de sodio en concentraciones inferiores al 10 ‰ no produce acción. Con esta concentración se obtiene ya aumento, ya disminución de la amplitud de

los latidos cardiacos (acción inconstante y débil). En cambio con la nicotinamida al 1/1000 y al 1/100 se obtiene aumento de la amplitud, mientras que al 10/100 se produce una disminución de la misma.-

Acción sobre corazón de perro "in situ".- Se han hecho experiencias con nicotinato de sodio y nicotinamida. Con estas sustancias a dosis de 0.002, 0.004, 0.01 y 0.02 por kg. de peso no demuestra ninguna acción, solo se obtiene pequeño aumento de la amplitud de las contracciones auriculares y ventriculares con el nicotinato de sodio a la dosis de 0.10 y 0.20 g./kg. de peso, dosis muy altas y fuera del margen de las dosis terapéuticas humanas corrientes.-

Acciones vasculares: Presión arterial en perros.- El nicotinato de sodio a las dosis de 0.05, 0.10, 0.20 y 0.50 g./kg. de peso produce inconstantemente una elevación transitoria de la presión arterial.- Dosis inferiores no tienen acción.-

La nicotinamida a las dosis de 0.05, 0.10, 0.20, 0.25 y 0.50 g./kg. produce una hipotensión más o menos marcada y duradera. Dosis inferiores carecen de acción.-

Trazados pletismográficos.- Los trazados pletismográficos de riñón, bazo y patas dan resultados negativos para los dos últimos, no observándose variaciones de volumen con ninguna dosis de nicotinato de sodio, ni nicotinamida. En cambio se observan variaciones del volumen del riñón. Así el nicotinato de sodio a la dosis de 0.05 y de 0.10 g./kg. produce inconstantemente un aumento del volumen renal, pero como al mismo tiempo existe un aumento de la presión arterial, se debe interpretar ese aumento de volumen como un fenómeno pasivo por mayor repleción de los vasos del mismo órgano. La amida del ácido nicotínico produce efectos variables, según la dosis que se inyecte, así a dosis de 0.10, 0.20 y 0.25 g./kg. de peso provoca una disminución del volumen renal, como al mismo tiempo se produce un descenso de presión arterial. La interpretación ha de ser la misma que para el

nicotinato de sodio, asaber, que se trata de un fenómeno pasivo, un drenaje de sangre de los vasos del órgano. En cambio a dosis de 0.50 g./kg. de peso produce un aumento del volumen renal, a pesar de existir al mismo tiempo un descenso de la presión arterial. En este caso se puede aceptar que existe una vaso dilatación renal independiente de las modificaciones de la presión arterial general.-

Perfusión de las extremidades posteriores de sapo.- Por el método de Iawen-Trendelenburg en sapos, el nicotinato de sodio a dosis de 0.001 y 0.01 produce una ligera vasoconstricción, mientras que a dosis de 0.10 produce una vasodilatación.-

Por su parte la nicotinamida produce vasoconstricción a dosis de 0.0005 y 0.001 g. y vasodilatación a las dosis de 0.01 y 0.10g. Los efectos en general son pequeños y la acción vasoconstrictora es mayor que la que produce  $1 \times 10^{-5}$  g. de adrenalina. Por otra parte dosis altas equimoleculares de glucosa y cloruro de sodio provocan las mismas acciones vasodilatadoras señaladas.-

Perfusión de pata de perro.- Utilizando el método de perfusión pulsátil, los resultados se obtienen con diversas dosis de nicotinato de sodio y nicotinamida (0-01 a 0.50g.) son dudosas e inconstantes. Prácticamente no se puede demostrar ninguna acción vaso constrictora ni vasodilatadora.-

Capilaroscopia del mesenterio de sapo.- Efectuando el examen microscópico directo no se puede observar mayor modificación por acción de las diversas dosis de nicotinato de sodio y de nicotinamida (0.0005 a 0.10g.) excepto una dilatación capilar dudosa e inconstante con la dosis de 0.01g. de ambas drogas.-

Los trazados neumográficos en perros en general con nicotinato de sodio y nicotinamida en dosis variables (0.002 a 0.50g./kg. de peso no producen acción. Solamente en algunos casos se obtiene un

aumento de la amplitud y frecuencia respiratoria con nicotinamida a la dosis de 0.25g./kg. de peso (39-40).-

Acción cardio-vascular en el hombre.-

El ácido nicotínico generalmente modifica la frecuencia del pulso, tensión arterial y ritmo, ya se utilice la vía oral o la vía endovenosa. Alguna vez la inyección endovenosa de 10 a 20 mg. de una solución al 1% produce al cabo de 1 a 3 minutos un aumento de 5 a 10 pulsaciones. Si bien Lavarello dice que no trae cambios en el trazado electrocardiográfico tomados antes y después de la inyección endovenosa, aclara que han encontrado con el Dr. Galán, luego de un largo tratamiento con ácido nicotínico un acortamiento del tiempo PR, mejorando la conducción auriculoventricular (39). También Malamud, Monatirsky, Socolinsky y Kaplan (42) confirman el aumento de frecuencia, pero afirman que no hay variación de la tensión arterial.-

Goldsmith (43) dice que la administración de ácido nicotínico no produce cambios significativos en el valor metabólico o temperatura del cuerpo antes de la aparición de la característica reacción de la piel, la vasodilatación entonces no parece ser compensatoria al aumento de la producción de calor y evidencia disponer al mismo tiempo que la respuesta vasodilatadora es debido a un efecto local sobre las arteriolas de la piel.-

Rachmilewitz y Braun llegan a la conclusión que los cambios electrocardiográficos que ocurren en la pelagra son debidos específicamente a la deficiencia de ácido nicotínico.-

¿Que explicación se puede dar del efecto directo del ácido nicotínico sobre el corazón?. El ácido nicotínico se sabe que produce una vasodilatación en la piel, como lo indica el sonrojamiento de varias partes del cuerpo después de la administración de esta droga. Es concebible que el ácido nicotínico tiene el mismo efecto so-

bre los vasos coronarios, entonces aumenta el suministro de sangre al corazón.- Pero es dudoso que la sangre de los órganos viserales estén todos afectados por el ácido nicotínico. Hay investigaciones conocidas que la sangre fluye aunque el cerebro está difícilmente aumentada por esta sustancia, aunque los vasos pudieran encontrarse dilatados.- A veces la acción vasodilatadora del ácido nicotínico es en general de carácter transitorio. El enrojecimiento de la piel desaparece de 1/2 a 1 hora. Ello puede asemejarse a veces, que la influencia del ácido nicotínico sobre el cambio electrocardiográfico, es debida a alguna acción fundamental más. Los más conspicuos cambios observados en el electrocardiograma por acción del ácido nicotínico, están en la onda T. En casi todos los cambios metabólicos, está reflejado en el músculo cardíaco en la onda T. En ácido nicotínico es parte de las coenzimas, las cuales son esenciales para el metabolismo de los carbohidratos; una marcada disminución en los músculos estriados de sujetos humanos, afecta la habilidad de los músculos para regular su función oxidativa. Parece lógico pensar que una alteración del estado metabólico del corazón sea debido a la deficiencia de coenzimas. Ello desaparece después de administrar ácido nicotínico.--(44).-

En general en nuestras observaciones, la variación del ritmo cardíaco se modifica levemente, hacia una bradicardia sin importancia. Sin embargo en casi todos los casos se hace presente al inyectar ácido nicotínico la rubefacción que abarca la parte superior del tórax, cuello y cabeza, a veces con prurito, y siempre con una sensación ardiente de la superficie cutánea.-

El compuesto derivado del ácido nicotínico, la dietilamida del mismo, llamada comúnmente Coramina, tiene una acción específica cardio-vascular, y también como un derivado antipelagroso.-

Las acciones centrales analépticas de la Coramina, no producen

aumento de oxígeno contenido en la sangre arterial (45), pero si una mejor irrigación del corazón por su circuito coronario, dilatándose estos vasos y por lo tanto existe un mayor rendimiento del corazón (46), de aquí su uso en las insuficiencias cardíacas. La acción de la Coramina es distinta del ácido nicotínico en lo que a corazón se refiere, no siendo motivo de nuestro trabajo.-



C A P I T U L O V

COMENTARIOS SOBRE METODOS DE DETERMINACION DE ACIDO NICOTINICO.

Se han intentado numerosos métodos para la determinación de ácido nicotínico en biología, y pueden clasificarse según las técnicas exigidas, en 3 grupos:

Métodos microbiológicos.-

Métodos biológicos y

Métodos químicos.-

Trataremos sintéticamente los principales métodos de los 3 grupos, reseñando las ventajas e inconvenientes que ellos presentan.-

Métodos microbiológicos.-

Fundamentan estos métodos en el desarrollo de microorganismos con la presencia de ácido nicotínico, indispensables en los medios de cultivo.-

Métodos de Snell y Wright (1).- El microorganismo empleado es el *Lactobacillus arabinosus* en un medio sintético complejo.-

El medio está compuesto de numerosas sales inorgánicas, caseína hidrolizada, cistina, triptófano, adenina, guanina, uracilo, vitamina B<sub>6</sub>, riboflavina, biotina, glucosa, acetato de sodio, ajustando el pH de 6,6-6,8. En este medio se produce ácido láctico en cantidad proporcional al ácido nicotínico agregado.-

El trabajo requiere una serie de tubos con cantidades crecientes de ácido nicotínico, aproximadamente de 0.002 a 0.04  $\gamma$  por ml. Una vez sembrado con *Lactobacillus arabinosus* se incuba 72 horas a 30°C. Después de este tiempo se titula el ácido láctico producido.-

A otra serie de tubos también con cantidades crecientes de ácido nicotínico, se utiliza comparativamente con los resultados anteriores.-

Se aplica el método en la determinación del factor antipelagroso en tejidos animales y vegetales.-

Método de Dorfman, Horwitt, Koser y Saunders (2).- Utilizan el bacilo disentérico, determinan la cantidad mínima necesaria de cualquier extracto o líquido desconocido, que al ser agregado al medio sintético empleado por ellos, produce un desarrollo del bacilo disentérico, comparable al que produce una cantidad conocida de ácido nicotínico. El bacilo disentérico se desarrolla normalmente en un medio que contenga 0.005% de ácido nicotínico %.-

Método de Querido, Broff y Lataste (3).- Utilizan en sus determinaciones el bacilo Proteus, utilizado por Fildes, sabiéndose que este germen necesita invariablemente para su desarrollo factor antipelagroso y el crecimiento microbiano es proporcional a la cantidad de ácido nicotínico o nicotina presente. Es usado para la determinación del factor PF en sangre defibrinada obtenida por punción venosa y diluida 1: 50 de agua destilada. Se filtra por tófia tipo Chamberland y se agrega al medio de cultivo estéril. El medio de cultivo sintético es preparado por los autores y tiene una composición química determinada.-

Simultáneamente se preparan 3 medios testigos:

1) Medio no sembrado, 2º) medio no sembrado y adicionado de sangre estéril defibrinada y filtrada y 3º) medio sembrado. Se incuban 36 horas a 28°C. y luego se lee la densidad óptica de los cultivos con el electrofotómetro de Kunier. El método es muy aproximado y requiere el medio, que los autores utilizan. Además es excesivamente larga y llena de detalles de técnica que no están al alcance de novicios.-

Método de la Farmacopea de los E.S.U.U. XII ed. (4).- Es muy semejante al de Snell y Wright. Se prepara el medio de acuerdo con las sustancias consignadas en la farmacopea estadounidense, ajustando el

pH a 6.8.-

Se prepara una serie de tubos duplicados al que se les agrega cantidades crecientes de ácido nicotínico y 5 ml. de solución madre de medio básico. Se completa de 10 ml. con agua destilada estéril a cada tubo.-

A los tubos duplicados se le agregan 1, 2, 3, 4, 5, ml. de solución a ensayar, medio básico 5 ml. y agua destilada estéril o.s.p. 10 ml.-

Se mezclan y tapan los tubos y se colocan en autoclave durante 30 minutos a 121° C. Una vez frío se siembran con una gota de *Lactobacillus arabinosus*, y se incuban 72 horas de 30 a 37° C.-

Una vez desarrollado el *Lactobacillus* se transfiere a un recipiente adecuado lavando el tubo con 10 ml. de agua destilada y se valora la acidez con NaOH N/10 usando azul de bromo timol a pH 6.8.-

Se prepara una curva tipo trazando el promedio de las valoraciones, título expresado en ml. de NaOH N/10 por cada concentración de ácido nicotínico tipo contra microgramos de ácido nicotínico contenido en los tubos respectivos. Mediante esta curva tipo se interpola el contenido de ácido nicotínico de la solución de ensayo en cada serie de tubos duplicados.-

Método de Isbell, Wooley, Butler y Sebrell(5).- Se utiliza para valoración de nicotinamida y compuestos relacionados en sangre, orina y líquido cefalorraquídeo, mediante la *Shigella paradysenteriae*.

Se usa el medio de Fildes modificado, medio que contiene lactato de amonio, aminoácidos, etc. ajustando el pH a 7.4-7.6 en el momento del uso.-

La solución control contiene 0.05 % de nicotinamida por ml. Se incuba a temperatura de 31° C de 16 a 22 horas y se mide la turbidez en un fotómetro fotoeléctrico.-

Como todos los métodos microbiológicos no dan exactitud aceptable y la técnica es muy engorrosa.-

Métodos biológicos.-

Son métodos poco prácticos. Su importancia data del momento en que no se conocía con exactitud el factor antipelagroso, consistiendo todos en comparar cantidades mínimas necesarias para prevenir la "lengua negra" en perros sometidos a dietas especiales. Estos métodos han contribuido grandemente a identificar la vitamina en los albores de su estudio. Además no son tan específicos. Se han ensayado en pollos y en insectos, como la *Galleria Mellonella*.-

Entre las dietas exentas de factor antipelagroso para provocar la "lengua negra canina" se utilizó la de Goldberger, dando después dosis únicas de ácido nicotínico o una ración de los alimentos en estudio.-

Métodos químicos.-

Son los métodos que han adquirido mayor popularidad y exactitud. Aparecieron después de haber sido identificado el factor antipelagroso, y suplantaron los métodos biológicos y microbiológicos.-

Se agrupan dentro de 2 reacciones típicas colorimétricas.-

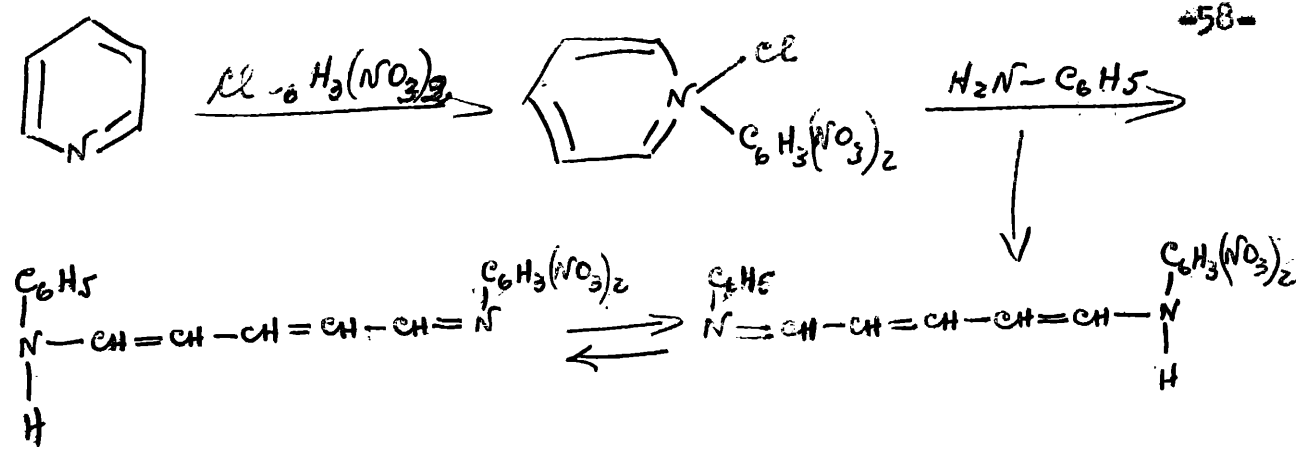
Reacción de Vongerichten.-

Método de Viltes, Spies y Mathews (6)

Reacción de Karrer y Keller (7).-

Reacción de Covello (8).-

Se basa la reacción de Vongerichten en la condensación del anillo pirídico con el 2,4-dinitroclorobenceno, formando sales de piridio que por acción de un álcali se desdoblan en derivados del aldehído glutacónico de color rojo amarillento. Este aldehído, tratado con anilina forma la anilida del aldehído glutacónico, compuesto polimético estable y fuertemente coloreado.-



Reacción de König: Usando como amina aromática: Anilina.

Método de Melnick y Field.

- " " Swaminathan.
- " " Pearson.
- " " Askelof y Holmberg.
- " " Forjé.
- " " Kringstad y Maess.
- " " Shaw y Mc.Donald.

Usando  $\alpha$  naftil amina.-

Método de Euler, Schlenk, Heiwinkel y Hogberg.

Usando Metol.

- Simer Stotz.
- Händler y Wald.
- Perlzweig, Levy y Sarrett.
- Händler y Dann.

Usando p-aminoacetofenona:.

- Harris y Raymond.
- Kodicek.
- Arnold, Schreffer y Lipsius.
- Moll y Jensen.-

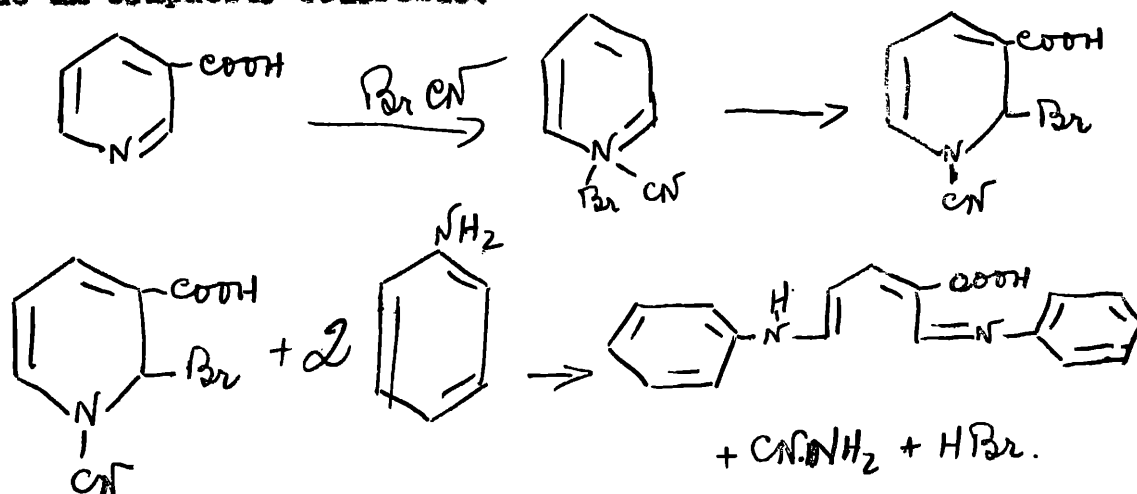
Usando ortoformo:

Martinek, Kirch y Webster

Usando bencidina:

Sarret.

Los métodos que se fundan en esta reacción son los más numerosos. Sintéticamente la reacción de König se interpreta de la siguiente manera: En BrCN sobre el núcleo de la piridina forma un compuesto de adición que se tautomeriza y se rompe el núcleo pirídico formando un aldehído glutacónico, que se combina con una amina aromática dando un compuesto coloreado.-



Esta reacción había sido usada para dosar piridina, ha sido adoptada en general por su sencillez y sensibilidad para la determinación de ácido nicotínico.-

a) Usando anilina.-

Método de Melnick y Field(9) Hidrolizan el material en medio ácido y decoloran luego con carbón. Tratan por BrCN y luego anilina y obtienen una coloración proporcional a la cantidad de ácido nicotínico presente. La técnica es idéntica a la de Shaw y Mc.Donald.-

Método de Swaminathan(10) Se utiliza para el dosage de ácido nicotínico en alimentos naturales.-

La sustancia problema se extrae por agotamiento sucesivos con agua caliente y las proteínas arrastradas se precipitan con una solución de acetato de plomo y el exceso de sal de plomo con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Si se obtiene un líquido muy coloreado se trata con carbón.-

La solución se lleva a pH 7,5 agregando luego el bromuro de cianó

geno y dejando 30' en contacto. Despues se agrega la solución saturada de anilina y se produce una condensación de color amarillo, que se extrae con alcohol amílico y se da lectura fotométrica despues de 2 a 3 horas.-

Método de Pearson(11).- Es una determinación aproximadamente igual a la que usa Swaminathan y lo aplica para la titulación de la nicotinamida.-

Deproteiniza la sangre por el método de Folin-Wu. El líquido desproteínizado lo hierve con  $HCl$  y concentra a pequeño volumen, separando lo que precipita por centrifugación. Ajusta el pH a 7 con NaOH y luego agrega BrCN y anilina y hace lecturas fotométricas.-

Método de Askelof y Holmberg.(12). Muy semejante al método de Kringstad y Naess que realiza la extracción por tratamientos sucesivos con agua y a b.m. Acidifica el extracto y elimina el exceso de ácido sulfúrico con acetato de plomo. Decolora con tierra de infusorios o carbón y ajusta el pH a 6.1. con mezcla reguladora de fosfatos. Ahora realizan la reacción de König con anilina.-

Método de Forjé.-(13) Similar al anterior y lo utilizan para orina con un pH 6.1. Cuando la orina es muy coloreada extraen alcohol amílico y realizan allí la reacción de König.-

Método de Kringstad y Naess.- (14). Se emplea para tejidos e hidrolizan con hidróxido de bario durante 2 horas. Tambien extraen con agua a b.m., Realizan la reacción de König a pH 6.3.-

Método de Shaw y McDonald.- (15). Se utiliza en la determinación de ácido nicotínico en extractos hepáticos comerciales. Utilizan con decolorante una cantidad de carbones y los resultados los reúnen en una tabla. El ácido nicotínico es adsorbido en una proporción elevada.-

Aconsejan estos autores decolorar con el alcohol que precipita casi todas las sustancias coloreadas de los extractos. Despues de

la reacción de König lee los resultados en el tintómetro de Lovibond.-

b) Usando  $\alpha$ naftilamina.-

Método de Euler, Schlenk, Heiwinkel y Hogberg (16).- Realizan una extracción hídrica del material en ensayo y purifican. Tratan por BrCN y clorhidrato de  $\alpha$ naftil amina en solución alcohólica. Se deja 2 horas en reposo y se hace la lectura en el fotómetro de Pullfrich.-

c) Usando metol:

Método de Stotz.- Lo usan para sangre desproteínizada por el método de Folin-Wu. Se lleva a pH determinado y se realiza la reacción de König con bromuro de cianógeno y metol en solución saturada. El Br de cianógeno lo usan al 4 %. Usan un colorímetro fotoeléctrico.-

Método de Bandier y Hald (17).- Trabajan en solución acuosa y ensayaron varias aminas aromáticas y llegaron a la conclusión que el metol es el mejor reactivo que produce buena coloración en la reacción de König.-

La coloración no se desarrolla bien en medio alcalino. Las sales disueltas no modifican la coloración. Siguen en general estos autores las técnicas generales con pequeñas variantes.-

Método de Perlzweig, Levy y Sarrett.-(18) Lo utilizan para determinaciones de ácido nicotínico antes o después de ingerirlo en la excreción de orinas normales. Hidrolizan con KOH y llevan luego a pH 8. a 8.5 y evaporan hasta consistencia siruposa. Se agregan unos mls. de HCl y unas gotas de HNO<sub>3</sub> concentrado y una vez que ha desaparecido la espuma se lleva a volumen con agua destilada. Trata con reactivo de Lloyd, se agita y se centrifuga desechando el líquido sobrenadante. El residuo es eluido con KOH y se decolora con nitrato de plomo, cuyo exceso se precipita con fosfato de potasio, ajustando el pH a 4.5 y se realiza la reacción de König, usando metol en solución



saturada.-

Método de Handler y Dann (19).- Se emplea para tejidos, que se tritura en un mortero y se trata con agua clorhídrica manteniendo la suspensión en b.m. 1 hora. Se enfría y se decolora con reactivo de Lloyd en medio alcalino. Es análoga a la reacción de Bandier y Hald. La lectura es fotocolorimétrica.-

d) Usando ortoformo.-

Método de Martinek, Kirch y Webster. (20)- El material a investigar se hidroliza y debemos tener una cantidad equivalentes entre 5 y 60 de ácido nicotínico. Se diluye con agua destilada fría. Se agrega el BrCN al 4% y una solución tampón. Después de calentar 5' a vapor de agua se agrega una solución de ortoformo 0m-amino p-hidroxibenzoato de metilo- La lectura se hace a los 15'.-

Según estos autores la lectura no depende del pH, de aquí la importancia del uso del ortoformo.-

e) Usando bencidina.-

Método de Sarrett.-(21) Se usa para orina. Se hidroliza y la solución se trata con  $(\text{HO}_2)_2\text{Pb}$  para clarificarla y por centrifugación se separa el ppdo. Se precipita el exceso de sal de plomo con fosfato tripotásico. Luego se ajusta el pH y se trata con BrCN y bencidina y se hace la lectura fotométrica.-

f) Usando p-aminacetofenona.-

Método de Arnold, Schreffer y Lipsius (22).- Los autores lo emplean para la determinación en productos animales y vegetales. La sustancia se divide finamente y se diluye en agua. Se lleva a un autoclave a la atmósfera durante 15'. Luego se enfría y se centrifuga. El residuo sobrenadante es agotado nuevamente con agua.-

Se reúnen los líquidos de la extracción y se alcaliza con NaOH al 20% para hidrolizar 1 hora en b.m. hirviente.- Se enfría, se agrega bicarbonato de sodio y se ajusta el pH con HCl.- El pH debe ser

de 6 a 6.2. El líquido se diluye a 100 ml. y se trata según la técnica de Harris y Raymond, fraccionándolo en 4 tubos marcados con las letras X, A, B, y C.-

Después de realizada la reacción de König, la coloración producida se pasa a 15 ml. de acetato de etilo y se hace la lectura fotométrica.-

#### Método de Noll y Jensen. (23)

Se utiliza para la determinación de ácido nicotínico en leche y derivados, hidrolizando con  $H_2SO_4$  hasta obtener una acidez aproximada del 8 %. La muestra se calienta una hora a baño de vapor de agua, se enfría y se centrifuga, decantando el líquido sobrenadante. El residuo se agota con nuevas porciones de solución de ácido sulfúrico al 8 %. Se reúnen los líquidos de extracción y se ajusta el pH a 6-6.2 con NaOH 18N y se sigue la determinación según la técnica de Arnold con muy ligeras modificaciones.-

Los métodos de Harris y Raymond y de Kodicek se tratará con más detalles en el próximo capítulo, y es el método empleado en nuestras determinaciones.-

Como consecuencia de todos los métodos microbiológicos y biológicos, no pueden asemejarse en exactitud a los métodos químicos, siendo estos mucho más prácticos y precisos.-

Los métodos químicos se basan exclusivamente en la reacción de Vengerichten y König. La primera reacción lleva una marcha laboriosa, no pudiéndose asegurar que el carbón adsorba el ácido nicotínico total, o que la elución lo separe. La reacción de König es mucho más simple y más cómoda para la experimentación.-

P A R T E

E X P E R I M E N T A L .

C A P I T U L O VI

DETERMINACION DE ACIDO NICOTINICO EN SANGRE

Método de Kodisek (1928).

Principio del método.- Es el mismo que el de Harris y Raymond para orina. La sangre hidrolizada con hidróxido de sodio, se divide en cuatro porciones: una se utiliza como blanco, otra se determina directamente y a las dos restantes se les añade cantidades conocidas de ácido nicotínico.-

La coloración producida por cada una de ellas, por el agregado de bromuro de cianógeno y solución acida de p-aminoacetofenona, se compara fotométricamente.-

Reactivos.-

Solución de bromuro de cianógeno.- Se prepara diariamente, añadiendo a una solución saturada y fría de bromo, una solución fría de cianuro de potasio al 10% hasta decoloración exacta.-

Solución de p-aminoacetofenona: A 5g. de p-aminoacetofenona se le añaden 30 ml. de ácido clorhídrico al 32 % (D= 1.19) y se completa con agua a 100 ml.-

Alcohol de 96%.

Hidróxido de sodio al 40%

Bicarbonato de sodio al 5%.

Solución tipo de ácido nicotínico de 100  $\mu$  por ml.- Se prepara semanalmente por dilución de una solución 10 veces más concentrada. Esta última se conserva bien.-

Acetona.-

Solución de azul de bromotimol al 0.04%.

METODO :

En un Erlenmeyer se colocan 5 ml. de sangre oxalatada, se le añaden 0.5 ml. de hidróxido de sodio al 40% y se calienta a b.m. hirviendo durante una hora. Sin enfriar, se le agregan 50ml. de acetona, se centrifuga. Al líquido claro decantado se le añaden 2 ml. de solución de bicarbonato de sodio al 5 % y se neutraliza con ácido clorhídrico concentrado, hasta pH= 6.5, usando azul de bromotimol, como indicador externo. Se completa a 50 ml. de alcohol de 96%.-

Se preparan 4 tubos graduados a 15 ml. con tapa, marcados X, A, B y C. En los tubos B y C se ponen 0.2 ml. (20  $\gamma$ ) y 0.4 ml. (40  $\gamma$ ) de la solución tipo de ácido nicotínico.-

A cada tubo se le añaden 10 ml. del extracto acetónico, se colocan en un b.m. calentado a 60-70° C. durante 10 minutos. Después de este tiempo se añade a los tubos A, B y C, 2 ml. de solución de bromuro de cianógeno y al tubo X, 2 ml. de agua destilada, se agita y se deja en el b.m. durante 5 minutos y se enfría en agua durante el mismo tiempo en la oscuridad.- Se le añade a todos los tubos 0.4ml. de reactivo de p-aminoacetofenona y se completan a 15 ml. con alcohol de 96%. Se mezclan, se dejan en la oscuridad durante 5 minutos y se comparan al cabo de este tiempo, usando el filtro S<sub>47</sub> y una cuba de 30 mm. El contenido del tubo X se usa como líquido de compensación.-

Cálculo.- Las lecturas obtenidas serán E<sub>a</sub>, E<sub>b</sub> y E<sub>c</sub> para los líquidos A, B y C respectivamente. Con estos tres valores se puede construir un gráfico colocando en la ordenada los valores de E hallados y en la abscisa las concentraciones de ácido nicotínico añadidos (20 y 40  $\gamma$ ). Por extrapolación gráfica se obtiene la concentración de ácido nicotínico en la muestra A (1 ml. de sangre).-

También puede calcularse de la fórmula siguiente:

$$\frac{E_a}{(E_b + E_c) - 2E_a} \times \frac{60}{V} = \gamma \text{ de ácido nicotínico por ml. de sangre}$$
 donde  $E_a$ ,  $E_b$  y  $E_c$ , extinción halladas para las soluciones A, B, y C respectivamente; V es el volumen de sangre contenido en el extracto tomado en el análisis (1 ml.).-

El valor hallado da la concentración de ácido nicotínico por 1 ml. y basta multiplicar por 100 para obtener el porcentaje.-

Se puede simplificar el procedimiento, haciendo un solo testigo con la adición de 20 gamas de ácido nicotínico y el cálculo será:

$$\frac{E_a}{E_b - E_a} \times \frac{20}{V} = \gamma \text{ de ácido nicotínico por ml. de sangre.}$$

En nuestras experiencias hemos realizado la recta gráfica con 5 tubos con cantidades crecientes de ácido nicotínico de : 20-40-60-80 y 100  $\gamma$ . Para cada concentración se hallaron los promedios de 6 lecturas (3 a la derecha y 3 a la izquierda.) En la gráfica de la pag. siguiente, evidencia el comportamiento satisfactorio de la reacción. La ley de Lambert-Beer se cumple con bastante aproximación, ya que las variantes se deben a errores experimentales insalvables.-

A continuación se expresan las lecturas promediadas y el coeficiente de extinción de cada una:

Tubos	Concentración $\gamma$	Extinción.-
1	20	0.14.
2	40	0.235
3	60	0.39
4	80	0.50.
5	100	0.625.

Ahora bien, con estos valores se ha trazado la curva correspondiente, y extrapolando las extinciones de las lecturas fotométricas se han obtenido los resultados del presente trabajo.-







En la misma gráfica se han trazado las ordenadas y abscisas que corresponde a una sangre que posee 25  $\gamma$  de ácido nicotínico por ml. y en la misma gráfica está explicada la razón de la primer fórmula para la determinación del ácido nicotínico de acuerdo con el teorema de Thales sobre la proporcionalidad de los catetos de triángulos rectángulos semejantes con la proyección de sus respectivas hipotenusas.-

A continuación daremos las extinciones correspondientes en la gráfica a cantidades crecientes de ácido nicotínico.-

---

Concentración	Extinción.
5 $\gamma$	0.034.
10 "	0.065
15 "	0.098
20 "	0.128
25 "	0.16
30 "	0.191
35 "	0.22
40 "	0.253.
45 "	0.285
50 "	0.318
60 "	0.388
70 "	0.442
80 "	0.50
90 "	0.575
100 "	0.625

---



DETERMINACION FOTOMETRICA DE ACIDO NICOTINICO TOTAL EN ORINA

Método de Harris y Raymond (3, 4).

Como el método de determinación de ácido nicotínico en sangre, de Kodicek, está basado en las determinaciones realizadas por Harris y Raymond en orina, se seguirá la misma técnica con el fin de evitar en lo posible los errores que significan las técnicas con distintos compuestos encargados de desarrollar la coloración. Por otra parte se han tenido resultados muy exactos en la curva de comprobación de la ley de Lambert-Beer.-

Principio del método.- Hidrolizar la orina por calentamiento prolongado a b.m. hirviendo con álcali fuerte, enfriar, llevar a pH= 6 y dividirla en cuatro porciones: una se utiliza como blanco de comparación, la segunda para determinación directa, y las dos restantes se agregan cantidades conocidas de ácido nicotínico. La coloración desarrollada por cada una de ellas por agregado de bromuro de cianógeno y p-aminoacetofenona se compara en el fotómetro de Fullrich usando filtro S<sub>47</sub>.-

Reactivos.-

Solución de hidróxido de sodio al 20%.

Solución de bicarbonato de sodio al 4 %.

Solución de azul de bromotimol al 0.04 %.-

Acido clorhídrico concentrado D= 1.19.

Solución de bromuro de cianógeno.- Se prepara extemporaneamente, agregando a una solución acuosa saturada de bromo, solución de cianuro de potasio al 10 %, gota a gota hasta decoloración exacta.-

Solución de p-aminoacetofenona.- A 5 g. de p-aminoacetofenona se le agregan 14 ml. de ácido clorhídrico al 10 % y se lleva aun volumen total de 50 ml.-

Solución titulada de ácido nicotínico.- Se prepara una solución que contenga 100  $\gamma$  por ml. Esta solución es inestable, de manera que se prepare por dilución de otra 10 veces más concentrada que se conserva bien.-

Solución de ácido clorhídrico al 10% .

METODO

Medir exactamente 25 ml. de orina, agregarle 5 ml. de hidróxido de sodio al 20% y calentar a baño maría durante 30 minutos. Dejar enfriar y añadir 2 ml. de solución al 4% de bicarbonato de sodio y neutralizar con ácido clorhídrico concentrado hasta  $\text{pH}=6$ , usando azul de bromotimol como indicador externo (que se gastan alrededor de 1.8 ml.). Pasar el líquido a un balón aforado de 50 ml. y completar a volumen con los lavados. Si se sospecha la presencia de gran cantidad de ácido nicotínico se puede diluir a 100 o 200 ml.

Se preparan cuatro tubos graduados a 15 ml., marcados X, A, B y C. El tubo X se usa como blanco, al B se le añaden 0.2 ml. de solución de ácido nicotínico (20  $\gamma$ ), al C se le agregan 0.4 ml. (40  $\gamma$ ) de solución de ácido nicotínico y a cada uno de ellos 10 ml. de orina hidrolizada y diluida, lavando las paredes de los tubos. Se colocan los tubos en un baño maría calentados a 80°C. durante 10 minutos. El baño maría debe ser de metal para evitar la influencia de la luz. Al final del tiempo señalado se le agrega a los tubos A, B y C, pero no al X, 2 ml. de solución de bromuro de cianógeno, se mezclan por rotación y 4 minutos después se sacan de baño maría y se pasan a un baño de agua fría, no expuesto a la luz. Allí se dejan enfriar 4 minutos y se le añaden a todos los tubos 2 ml. de p-aminocetofenona. Se dejan los tubos a la oscuridad durante 15 minutos. Transcurrido ese tiempo se le agrega a cada tubo 0.4 ml. de solución

de ácido clorhídrico al 10%, se completa a 15 ml. con agua y se dejan otros 15 minutos a la oscuridad, después de lo cual se procede a la lectura en el tambor de fotómetro de Pullfrich, utilizando filtro  $S_{47}$  y cubas de 30 ml. de espesor. El contenido del tubo X se coloca en la cuba de compensación.-

CALCULO.- Si las lecturas efectuadas son  $E_a$ ,  $E_b$  y  $E_c$ , se puede construir un gráfico colocando en la ordenada los diferentes valores de E y en las abscisas las concentraciones conocidas de ácido nicotínico añadidas (20 y 40); por extrapolación gráfica se obtiene la concentración de ácido nicotínico de la muestra.-

También se puede calcular aplicando la fórmula siguiente:

$$\frac{E_a}{(E_b + E_c) - 2 E_a} \times \frac{60}{V} = \gamma \text{ de ácido nicotínico en 1}$$

ml. de orina, donde V representa los mililitros de orina no diluida y tomada en el análisis (5 ml.), y 60 el total de gamas de ácido nicotínico que se han agregado. Para obtener el porcentaje basta multiplicar la cifra obtenida por 100.-

En las determinaciones de rutina puede hacerse con solo tres tubos: X, A, B y entonces si B tiene 20 gamas de ácido nicotínico añadido, el cálculo es:

$$\frac{E_a}{E_b - E_a} \times \frac{20}{V} = \gamma \text{ de ácido nicotínico en 1}$$

ml. de orina.-

En nuestra comprobación de la ley de Lambert-Beer, se ha realizado con 10 tubos con una escala de concentraciones en ácido nicotínico agregado de: 5- 10- 15- 20- 25- 30- 35- 40- 45- 50-  $\gamma$ . Para cada una de estas determinaciones se hicieron tres lecturas a la derecha y tres a la izquierda determinando el promedio, que dan los datos consignados.-

Si bien la técnica, que aconseja Harris y Raymond usan 2 ml. de p-aminoacetofenona, en nuestras experiencias solamente se usó 1 ml.

dado que a esta concentración desarrolla un color perfectamente comparable, y evita que la intensidad sea excesiva, siendo por lo tanto la comparación fotométrica más exacta.-

En las determinaciones de sujetos normales y cardíacos en las que 24 horas antes se había administrado 50 mg. de ácido nicotínico intramuscular se llevaba la dilución a 100 ml., teniéndose muy en cuenta al finalizar para los cálculos.-

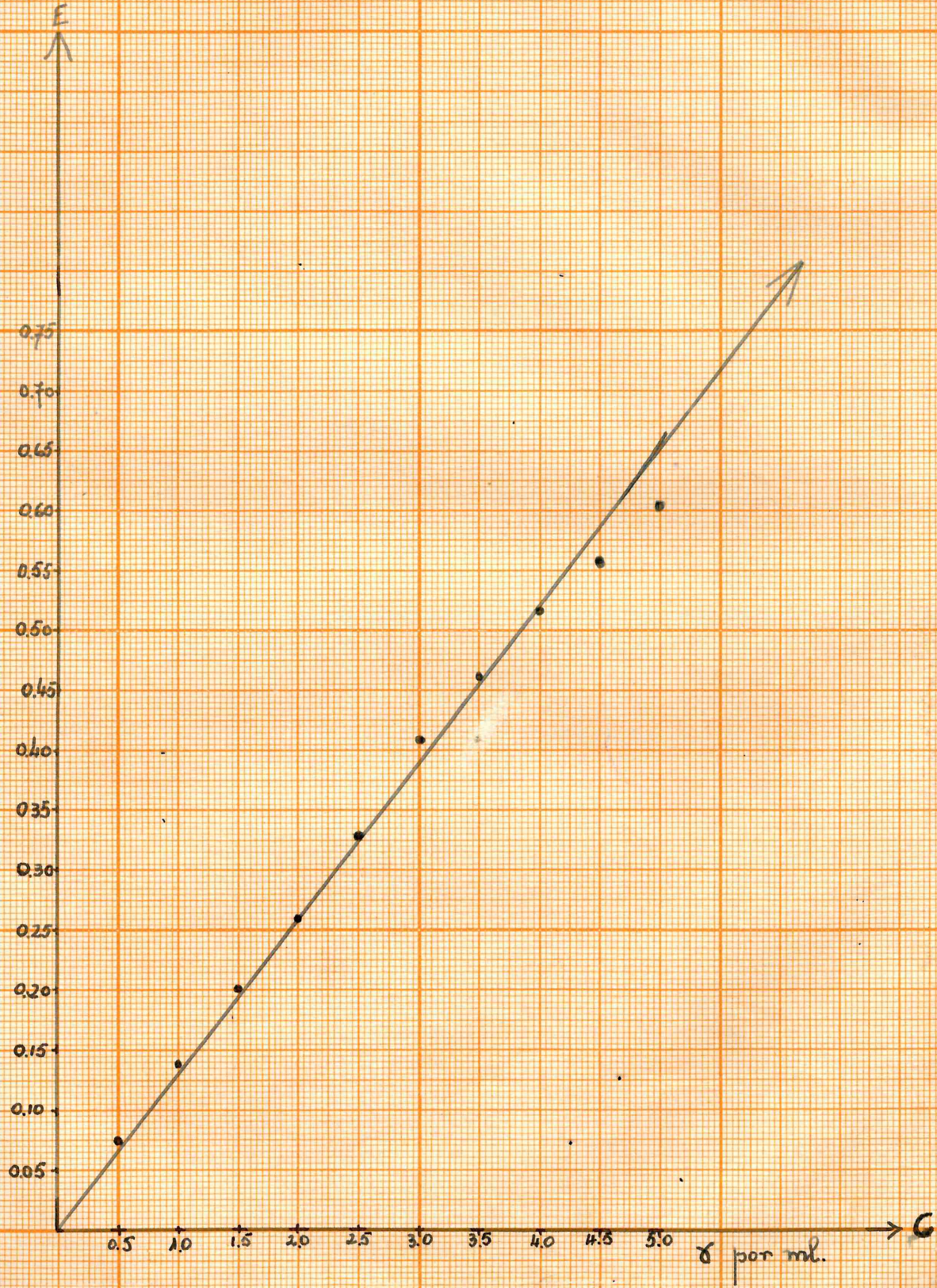
Es precisamente en las determinaciones de orina, la que más cuidado se ha tenido, ya que al variar el volumen, puede acarrear resultados que no están de acuerdo con la lógica. Es así que muchas de las determinaciones no han podido realizarse, porque los sujetos a quién se les pedía encarecidamente guardaran el volumen eliminado en las 24 horas, no siempre lo cumplieron y así anulaban también las determinaciones en sangre. A los que así procedieron no se han incluido en el número de determinaciones realizadas.-

Otro detalle que se consideró importante, es que las determinaciones en sangre y orina se realizaron en el mismo día, ya que así se evitan los factores de error debido a la alimentación, seguridad, que tiene sobre la posibilidad que el enfermo no nos abandone, y por sobre todas las cosas, la mejor organización del trabajo.-

En la página siguiente insertamos la curva gráfica de determinación de la ley de Lambert-Beer.-



Gráfica de la comprobación de la ley de Lambert-Beer en la  
determinación fotométrica de ácido nicotínico en orina, por  
el método de Harris y Raymond. Usando filtro S47



C = Concentración  
E = Extinción



A continuación daremos los valores correspondientes a nuestras determinaciones, y que están dados en la gráfica de la tabla anterior.-

Tubos	Concentración	Extinción
1	0.5 $\gamma$ por ml.	0.076
2	1. " "	0.137
3	1.5 " "	0.201.
4	2. " "	0.260
5	2.5 " "	0.333
6	3. " "	0.425
7	3.5 " "	0.466
8	4 " "	0.529
9	4.5 " "	0.550
10	5. " "	0.592.

## C A P I T U L O V I I

### DETERMINACION EN SANGRE Y ORINA EN SUJETOS NORMALES.- SU ELIMINACION, SIN Y CON DOSIS TERAPEUTICAS DE ACIDO NICOTINICO.-

En nuestras experiencias se han tomado sujetos hospitalizados y ambulantes para la determinación de ácido nicotínico en sangre y orina total de 24 horas con el fin de poder cotejar resultados con sujetos cardíacos.-

Los sujetos normales que se han prestado para realizar determinaciones no padecían de ninguna enfermedad orgánica que pudiera dar motivos a errores. Por otra parte los sujetos fueron sometidos a tratamientos alimenticios mixtos y concordantes, de manera que al dosificar su eliminación regular, fuera ella la que nos dé el índice exacto del trabajo metabólico de las 24 horas que se recogía la orina.-

Todas las determinaciones fueron realizadas en sujetos en ayunas, revistiendo importancia en la recolección de la sangre.-

En cuanto a la medicación a que estaban sometidos, ha sido especialmente estudiadas, dado que toda droga que sufriendo transformaciones metabólicas pueda dar el núcleo de la piridina, ya sea libre como combinado, es valorable en los métodos fotométricos, basados en la reacción de König, de aquí la importancia fundamental de su control.-

Los valores que figuran a continuación se debieran haber realizado con una determinación previa del valor glóbular o hemoglobínico, ya que el ácido nicotínico se encuentra, según algunos autores, totalmente en los glóbulos al estado de coenzimas y nada en plasma. Sin embargo, se subsana dicho inconveniente por la constante atención que se ha prestado, que los individuos no estén vincu-

lados a una posible anemia, en cuyo caso no podrían servir de base comparativa con los cardíacos tratados.-

Como dieta concordante exigida a todos los enfermos tratados, normales y cardíacos, fué la siguiente, durante las 24 horas de colección de la orina:

Leche ..... 1 litro aproximadamente.

Puré de papas.....1/4 kg.

Carne asada.....150 grs.

Pan.....400 grs.

Esta dieta posee aproximadamente 6 mg. de ácido nicotínico.-

Contra indicaciones a la dieta: no fumar, no tomar té, café, o mate.- Evitar toda medicación y dar tiempo suficiente a la eliminación si ya estuviera bajo algún tratamiento.-

A continuación daremos los resultados de muestras determinaciones en sujetos normales, sin medicación alguna y sometidos a la dieta ya mencionada.-



Nº	Lugar	Sala y cama o ficha.	Sexo.	Nombre	Edad	Fecha	Mg. de a- cido nicot- ínico % en sangre	Mg. ac- nicoti- nico en orina ex- aminado en 24 horas	Volu- men u- rina- rio ml en 24 horas
1	D.P.	3552	F	J.S.	31	16-XII-44	0.457	7.210	1.550
2	" "	1752	M	L.T.	69	16-XII-44	0.356	4.223	1.700
3	" "	80	M.	M.A.	44	23-XII-44	0.653	8.917	1.300
4	" "	1868	M.	H.S.	28	30-I-45	0.734	5.121	1.450
5	" "	5004	M.	A.S.	55	8-II-45	0.684	6.152	1.700
6	" "	1752	M.	L.T.	69	17-II-45	0.397	5.103	1.550
7	H.P.	IIIa	M.	C.S.	30	19-II-45	0.452	9.360	2.100
8	" "	21 <sup>ca-</sup>	M.	M.F.	47	19-II-45	0.930	6.048	1.900
9	" "	14 <sup>milla</sup>	M.	J.M.	52	21-II-45	0.229	5.434	1.750
10	" "	14 <sup>u</sup>	M.	B.R.	49	21-II-45	0.760	3.654	1.800
11	D.P.	12 1608	F.	H.H.	24	8-III-45	0.630	5.407	2.000
12	" "	2700	F.	E.D.C.	31	17-III-45	0.785	3.152	1.900
13	" "	1752	M.	L.T.	69	24-III-45	0.513	4.327	1.400
14	" "	1565	M.	V.G.G.	25	11-V-45	0.710	7.632	1.950
15	H.P.	IIIa. 7	M.	P.A.	52	19-V-45	0.624	4.337	1.100
16	D.P.	4661	M.	P.S.	24	19-V-45	0.726	8.166	1.850
17	" "	4699	F.	M.D.H.	45	26-V-45	0.714	5.825	1.750
18	" "	3517	F.	S.H.	17	16-VI-45	0.914	6.333	1.800
19	" "	5057	F.	J.A.	76	7-VII-45	0.774	5.421	1.350
20	" "	5303	M.	D.P.	40	23-IX-45	0.654	5.143	1.650

PROMEDIOS . . . .

0.635

5.848

1.677

Simultáneamente a estas determinaciones y a continuación, se realiza en los mismos enfermos una inyección intramuscular de 50 mg. de ácido nicotínico.- Se recoge la orina durante las 24 horas siguientes a la inyección y se extrae sangre 24 horas después de la administración intramuscular para determinar el índice de fijación dado por el dato anterior y los resultados que se darán a continuación:

Estas experiencias se realizan sobre los mismos enfermos que consignamos anteriormente, con el fin de anular en lo posible, los errores debidos a la ideosincracia personal que presentan frente al ácido nicotínico. Además se han realizado estas determinaciones a continuación de la dosificación de ácido nicotínico sanguíneo y urinario normal. No siempre los resultados han satisfecho, pero se debe especialmente a la falta de constancia por parte del enfermo, debiéndose por esta causa desechar los que no estuvieran encuadrados dentro de las exigencias expuestas.-

Se ha tenido especial interés en conocer exactamente el volumen de orina eliminado.- Lo consignamos en el caso de los sujetos normales, y en los cardíacos.-

DETERMINACIONES REALIZADAS SOBRE LOS SUJETOS NORMALES ANTERIORES A QUIENES SE LES PRACTICO 24 HORAS ANTES UNA INYECCION DE ACIDO NICOTINICO DE 50 mg.-

Nº	Fecha	mg. de ac. nicotínico % en sangre.	mg. ac. nicotínico eliminado en 24 horas en orina.	Volumen urinario de 24 hs.
1	19-XII-44	0.613	53.452	1.600
2	19-XII-44	0.454	46.418	1.800
3	30-XII-44	0.894	53.459	1.400
4	3-II-45	0.780	51.452	1.750.
5	10-II-45	0.625	52.927	2.000
6	24-II-45	0.575	45.512	2.300
7	23-II-45	0.720	56.265	2.000
8	23-II-45	1.107	53.250	1.800
9	24-II-45	0.364	51.824	1.750.
10	24-II-45	0.815	47.221	2.300
11	10-III-45	0.682	52.072	2.100
12	27-III-45	0.737	51.342	2.000
13	27-III-45	0.524	48.144	1.600
14	15-V-45	0.845	52.150	2.000
15	26-V-45	0.915	48.315	1.500
16	26-V-45	0.795	54.542	1.900
17	29-V-45	0.734	51.416	1.800
18	19-VI-45	0.830	52.425	2.050
19	19-VII-45	0.816	49.654	1.500
20	25-IX-45	0.714	50.061	1.700
PROMEDIOS. 0.727			51.085	1.842

Con los datos obtenidos podemos calcular la cantidad de ácido nicotínico fijada, eliminada y también comprobar la exactitud del método, aunque en este último caso está como intermedio entre la cantidad de ácido nicotínico inyectada y el ácido nicotínico eliminado, el organismo humano, errores experimentales, etc...-

Sin embargo, es necesario que los datos se aproximen siempre al valor absoluto, encontrándose 99.2% en el promedio.-

Los cálculos realizados sobre las experiencias practicadas sobre sujetos normales, las consignamos en el cuadro de la página siguiente, cuya explicación es la siguiente:

- I) Número correspondiente al sujeto en experimentación.-
- II) Peso del individuo.-
- III) Volemia del individuo, calculando  $1/13$  partes del peso del cuerpo.-
- IV) Acido nicotínico sanguíneo del sujeto normal en ayunas.-
- V) Acido nicotínico de los mismos sujetos en ayunas, a quienes se les ha practicado una inyección intramuscular de 50 mg. de ácido nicotínico 24 horas antes.-
- VI) Diferencia entre la cantidad de ácido nicotínico sanguíneo que posee el sujeto normalmente y la cantidad que ha fijado después de la inyección.-
- VII) Cálculo del ácido nicotínico fijado de acuerdo con el producto entre la volemia del individuo y la diferencia fijada (V-IV)
- VIII) Acido nicotínico urinario eliminado por un sujeto normalmente sometido a la dieta antes mencionada.-
- IX) Acido nicotínico urinario recuperado durante las 24 horas siguientes a la inyección de 50 mg.-
- X) Diferencia entre el ácido nicotínico urinario eliminado durante las 24 horas siguientes a la inyección y el ácido nicotínico eliminado normalmente por el individuo sometido a la dieta. IX-VIII.-

S U J E T O S N O R M A L E S

TABLA CON VALORES DE ACIDO NICOTINICO SANGUINEO, URINARIO, (SIN Y CON DOSIS TERAPEUTICAS) FIJADO Y RECUPERADO %

I N°	II Peso Kg.	S A N G R E				VI Diferen- cia	VII Cálculo del Ac. Nicotini- co total fijado de 24 hs. de mg.	O R I N A			XI Suma recupera- cion total	XII Recupe- rado %
		III Volemia 1/13 par- te peso Litros	IV Acido Ni- cotinico normal mg. %	V Ac. Nicotini- co 24h. de inyec- tar 50mg.	VIII Ac. Nicotini- co urinario nor- mal de 24 hs. de mg.			IX Ac. Nicot. uri- nario despues de 24hs. de in- yector 50 mg.	X Diferen- cia.			
1	48	3.69	0.457	0.613	0.056	2.067	7.210	53.452	46.242	48.309	96.6	
2	72	5.54	0.356	0.454	0.098	5.429	4.223	46.418	42.195	47.624	95.2	
3	53	4.07	0.653	0.894	0.241	9.808	8.917	53.459	44.542	54.350	108.6	
4	58	4.46	0.734	0.780	0.046	2.172	5.121	51.452	46.331	48.403	96.8	
5	55	4.23	0.684	0.625	-0.059	2.495	6.152	52.927	46.775	44.280	88.4	
6	72	5.54	0.391	0.575	0.178	9.872	5.108	45.512	40.409	50.271	100.4	
7	47	3.61	0.452	0.720	0.268	6.425	9.360	56.265	46.905	53.330	106.6	
8	54	4.15	0.930	1.207	0.177	7.345	6.048	53.250	47.282	54.547	109.0	
9	82	6.30	0.229	0.364	0.135	8.505	5.432	51.324	45.892	54.997	108.6	
10	58	4.46	0.760	0.815	0.055	2.453	3.654	47.221	43.567	46.016	92.0	
11	62	4.77	0.630	0.682	0.052	2.480	5.407	52.072	46.665	49.145	98.2	
12	53	4.07	0.785	0.737	-0.048	1.953	3.152	51.342	48.198	46.237	92.4	
13	72	5.54	0.513	0.524	0.011	6.994	4.327	48.144	43.817	49.911	99.8	
14	81	6.23	0.710	0.845	0.135	8.410	7.632	52.150	44.518	52.928	105.8	
15	62	4.77	0.624	0.915	0.291	10.880	4.337	48.315	43.978	54.858	109.6	
16	92	7.07	0.726	0.795	0.069	4.878	8.166	54.842	46.676	51.554	103.0	
17	98.	7.54	0.714	0.734	0.020	1.580	5.825	51.416	45.591	47.099	94.0	
18	42	3.23	0.914	0.830	-0.084	2.713	6.333	52.425	46.092	43.379	86.6	
19	76	5.84	0.774	0.816	0.042	1.953	5.421	49.654	44.233	46.186	92.3	
20	95	7.30	0.654	0.714	0.060	4.380	5.143	50.061	44.918	49.298	98.5	
PROMEDIOS:		5.12	0.635	0.727	0.096	5.135	5.841	51.435	45.594	49.606	99.2	

XI) Suma del ácido nicotínico eliminado (X) y el ácido nicotínico calculado que se ha fijado (VII) . Recuperación total del ácido nicotínico inyectado X-VII.-

XII) Recuperación total %.-

Con los promedios consignados en la última columna, podemos asegurar que los sujetos tratados responden satisfactoriamente a los ensayos realizados.-

Ahora bien, para el caso de los sujetos cardíacos nos interesa la recuperación del ácido nicotínico total urinario, menos la cantidad eliminada normalmente (X).- Los sujetos normales eliminan un promedio de 45.594 mg. sobre 50 mg., es decir un 91.2%, descontando la cantidad normalmente eliminada.-

C A P I T U L O VIII

DETERMINACION DE ACIDO NICOTINICO EN SANGRE Y ORINA DE CARDIACOS,  
SIN Y CON ADMINISTRACION DE DOSIS TERAPEUTICAS.-

Para realizar estas determinaciones repetimos todas las precauciones tomadas para los sujetos normales. Además, podemos agregar que es fundamental conocer a fondo el tratamiento a que están sometidos. La digital, diurética, teobromina, aminofilina, cefalina, son factores de error que hemos eliminado.-

A continuación, daremos los resultados en el tenor de ácido nicotínico sanguíneo y urinario que normalmente poseen los cardíacos tratados, es decir sin dosis terapéuticas.-

Posteriormente, damos los datos sobre los mismos enfermos a quienes se les ha practicado 24 hs. antes una inyección intramuscular de 50 mg. de ácido nicotínico.-

Para estas determinaciones los sujetos cardíacos están sometidos al mismo régimen que los sujetos normales,- Consignamos en una columna especial el diagnóstico clínico de su cardiopatía, como así también su volumen urinario de las 24 hs. que están sometidos al tratamiento.-

La sangre y orina de estos enfermos se han obtenido en las mismas condiciones que los sujetos normales.-

## ACIDO NICOTINICO NORMAL EN SANGRE Y ORINA DE CARDIACOS

Nº	Lugar	Sala y cama o ficha	Sexo	Nombre	Edad	Fecha	Diagnóstico	Volumen urinario ml.	Acido Nicotínico	
									Sanguíneo mg. %	Urinario to- tal de 24 hs. mg.
1	D.P.	3771	M.	J.O.	54	11 - XII - 44	miocardio es- clerosis	1600	0.580	3.587
2	"	3895	M.	L.P.	41	22 - XII - 44	Cardioaortitis	1350	0.395	3.152
3	"	1860	F.	C.O.	64	16 - I - 45	Insuficiencia e hipertensión	850	0.915	3.727
4	"	4034	F.	A.B.S.	48	24 - I-45	Hipertensión sis- tema cardiovas- cular	1000	0.428	2.185
5	"	4015	F.	P.P.L.	52	23 - I - 45	Insuf. cardíaca e hipertensión Taquicardia	1000	0.613	4.227
6	H.P.	IIIa.24	M.	A.B.	58	5 - II - 45	Asistolia	1250	0.514	2.272
7	D.P.	3611	M.	E.M.	60	32 - I - 45	Aortitis y ar- teriosclerosis	1100	0.527	3.876
8	H.P.	IIIa.13	M.	P.L.	60	5 - II - 45	Aortitis con insuf. ventricu- lar izquierda	1300	0.402	2.227
9	"	" 7	M.	P.G.	42	7 - II - 45	Insuf. aortica, e enf. de Hodgson	950	0.483	3.770
10	D.P.	4212	F.	J.N.P.	17	16 - II - 45	Distonía cardí- ca, Taquicardia hipertensiva	1100	0.714	5.427
11	"	4231	M.	P.M.	60	19 - II - 45	Enf. de Hodgson	900	0.527	3.222
12	"	1639	M.	E.M.	52	7 - III - 45	Insuf. cardíaca	1200	0.614	3.758
13	"	1548	F.	AD.C.	33	16 - III - 45	septo sistóli- co mitral	1500	0.794	5.724
14	"	1512	F.	R.P.	68	22- III - 45	Arritmia car- díaca	1300	0.810	4.327



(85)  
(Bis)

N°	Lugar	Sala y cama o ficha	Sexo	Nombre	Edad	Fecha	Diagnóstico	Volumen Urinario ml.	Acido Nicotínico	
									Sanguíneo mg. %	Urinario to- tal de 24 hs. mg.
15	D.P.	1518	F.	O.P.	60	28 - IV - 45	Arteriosclerosis y extrasístole	1250	0.443	3.117
16	H.P.	IIIa.19	M.	P.K.	68	13 - V - 45	Insuficiencia cardia- ca por miocardio es- clerosis	1100	0.252	3.631
17	"	" 20	M.	J.A.	72	13 - V - 45	Insuficiencia cardia- ca congestiva con fi- brilación auricular	1150	0.286	2.763
PROMEDIOS.....								1171 ml.	0.547mg. %	3.584 mg.

ACIDO NICOTINICO EN SANGRE Y ORINA DE CARDIACOS, A QUIENES SE LES HA  
PRACTICADO 24hs. ANTES UNA INYECCION DE 50mg.

nº	Fecha	Volumen Urinario ml.	Acido nicotínico	
			sanguíneo mg.%	Urinario total de 24 hs.
1	13-XII-44	1.450	0.627	43.470
2	30-XII-44	1.200	0.534	46.227
3	21-I-45	800	0.906	51.464
4	28-I-45	900	0.543	46.421
5	28-I-45	1.100	0.597	53.427
6	4-II-45	1.200	0.582	49.547
7	11-II-45	1.500	0.637	47.812
8	11-II-45	1.500	0.527	47.654
9	12-II-45	900	0.631	50.865
10	18-II-45	950	0.724	50.864
11	24-II-45	800	0.739	45.165
12	11-III-45	1.200	0.606	50.427
13	20-III-45	1.400	0.775	57.406
14	25-III-45	1.500	0.894	52.620
15	1-V-45	1.250	0.642	49.422
16	16-V-45	1.100	0.737	39.867
17	16-V-45	1.400	0.893	36.376
PROMEDIOS..		1.185	0.693	47.590

TABLA CON VALORES DE ACIDO NICOTINICO SANGUINEO, URINARIO, (SIN Y CON DOSIS TERAPEUTICAS) FIJADO Y RECUPERADO %

I N°	II Peso	III Volemia 1/13par- tes del peso.Lt.	S A N G R E				O R I N A				XII Recupera- do %
			IV Ac.Nicoti- nico nor- mal mg.%	V Despues de inyec- tar 50 mg. mg.%	VI Diferen- cia	VII Cálculo del ac.ni- cotínico fijado mg.	VIII Ac.Nicotini- co normal mg.	IX 24hs.despues de inyectar 50mg.	X Diferen- cia mg.	XI Suma recupera- ción total mg.	
1	87	6.69	0.580	0.627	0.047	3.144	3.587	43.470	39.883	43.027	86.0
2	47	3.61	0.395	0.534	0.139	5.117	3.152	46.227	43.875	48.192	96.4
3	42	3.23	0.915	0.906	-0.009	0.291	3.727	51.464	47.737	47.446	94.9
4	47	3.61	0.428	0.543	0.115	4.151	2.185	46.421	44.236	48.387	96.7
5	92	7.07	0.613	0.597	-0.016	4.131	4.227	53.427	49.200	48.331	96.7
6	52	4.00	0.514	0.582	0.068	1.920	2.272	49.547	47.275	49.195	98.4
7	78	6.60	9.527	0.637	0.110	6.600	3.876	47.812	43.936	50.536	102.0
8	70	5.38	0.402	0.527	0.125	3.716	2.227	47.654	45.427	49.132	98.3
9	52	4.00	0.483	0.631	0.148	5.920	3.770	50.865	47.095	53.015	106.0
10	58	4.46	0.714	0.724	0.010	0.446	5.427	50.864	45.437	45.901	91.8
11	53	4.07	9.527	0.737	0.212	8.628	3.222	45.165	41.943	50.571	101.1
12	68	5.23	0.614	0.606	-0.008	0.418	3.758	50.427	46.669	46.251	92.5
13	79	6.07	0.794	0.775	-0.019	0.153	5.724	57.406	51.682	50.529	101.0
14	43	3.30	0.810	0.894	0.084	2.772	4.327	52.620	48.293	51.065	102.0
15	42	3.23	0.443	0.642	0.099	3.197	3.117	49.422	46.305	49.602	99.2
16	55	4.23	0.258	0.737	0.485	20.515	3.631	39.867	36.236	56.751	113.4
17	64	4.92	0.286	0.893	0.607	29.864	2.763	36.376	33.613	63.477	126.8
PROMEDIOS: 4.69			0.547	0.693	0.146	6.847	3.584	47.590	44.590	50.082	100.1

PROMEDIOS OBTENIDOS EN LA CONCENTRACION SANGUINEA DE ACIDO NICOTINICO ANTES Y DESPUES DE LA INYECCION DE 50mg.

	Ac. Nicotínico sanguíneo normal mg. %	Ac. Nicotínico sanguíneo 24 horas después de inyectar 50 mg.	Diferencia que fijan.
Sujetos normales.	0.635	0.727	0.112mg. %
Sujetos cardíacos	0.547	0.693	0.146mg. %

PROMEDIOS OBTENIDOS EN LA ELIMINACION URINARIA ANTES Y DESPUES DE LA INYECCION DE 50 mg.

	Ac. Nicotínico urinario, eliminado normalmente.	Ac. Nicotínico urinario eliminado durante las 24 hs. siguientes a la inyección de 50 mg.	Saldo.
Sujetos normales.	5.841 mg.	51.435 mg.	45.594mg.
Sujetos cardíacos.	3.504 mg.	47.590 mg.	44.086mg.

De los promedios obtenidos en la concentración sanguínea entre los sujetos normales y cardíacos difieren muy poco, pero es notable la fijación de ácido nicotínico por parte de los cardíacos y es lógico que ello sea, ya que el nivel normal de ácido nicotínico en individuos cardíacos es inferior al nivel de los normales.-

Con respecto a los promedios entre la eliminación urinaria normal de los enfermos cardíacos y normales es bien manifiesta. Ya hay trabajos que hablan de la diferencia de eliminación (5). Cotejando con las concentraciones sanguíneas respectivas, podemos tomar como conclusión que ello se debe a que los sujetos cardíacos poseen menor tenor en ácido nicotínico y por lo tanto tienden a retenerlo, viéndose esta ex-

plicación en que fijan mayor cantidad del ácido nicotínico inyectado.

La eliminación urinaria durante las 24 horas siguientes a la inyección también confirma lo dicho anteriormente, si bien el saldo favorable de la eliminación, descontando los que regularmente hemos dosificado, varía levemente con los sujetos normales tratados.-

Las determinaciones consignadas en todos los cuadros para normales, como cardíacos han sido realizadas en días continuados, a fin de tener primeramente la eliminación o concentración, y, e inmediatamente la determinación de la fijación y eliminación, después de practicada la inyección intramuscular de 50 mg. de ácido nicotínico.-

Las ampollas de ácido nicotínico inyectada fueron preparadas de antemano, de tal manera que 2 ml. correspondían exactamente a 50 mg. con una jeringa controlada. También se han hecho previamente determinaciones de ácido nicotínico de las ampollas, para asegurarnos que ellas respondieran a el uso que se las destinaba.-

Las extracciones de sangre practicadas sobre todos los enfermos fueron realizadas con un ayuno de 10 horas como mínimo, y simultáneamente se determinaba el volumen urinario de las 24 horas anteriores a la extracción de sangre. Las muestras fueron conservadas en heladera cuando no fue posible la determinación inmediata de ácido nicotínico.-

Muchas determinaciones fueron desechadas, puesto que los enfermos cardíacos estaban sometidos a tratamientos con Iodobismutato de quinina. Este medicamento provoca la eliminación de complejos con el núcleo de la piridina valorándolo, ya que los métodos químicos colorimétricos de determinación de ácido nicotínico, están basados en el color producido entre la piridina con quininas aromáticas. Otro factor de error lo constituye la teobromina, por lo tanto siempre se tenía conocimiento de la medicación a que estaban sometidos. Los cardíacos no deben ser tratados con Coramina (Amida dietilica del ácido piridin beta carboxílico).-

Asociaremos a continuación los cardíacos con similitud en su afección y con las determinaciones que en cada uno de ellos se han realizado, las haremos comparativas con los promedios de los sujetos normales.-

GARDIACOS

Sujetos N <sup>o</sup>	Ac. nicotínico sanguíneo normal.	Ac. nicotínico urinario normal.	A. nicotínico sanguíneo después de la inyección 50mg.	Ac. nicotínico urinario después de la inyección 50mg.
5	0.615	4.227	0.597	53.427
10	0.714	5.427	0.724	50.864
Promedios en sujetos normales.-	0.615	5.841	0.727	51.435.

De estos datos comparativos no sugerimos que la diferencia entre los sujetos cardíacos y normales sea manifiesta. Por lo tanto los sujetos cardíacos con distonías cardíacas hipertensivas tienen en general idénticas concentraciones en el total del ácido nicotínico total sanguíneo, como urinario.-

Los cardíacos 11 y 9 con enfermedad de Hodgson poseen los distintos resultados que van a continuación y que cotejaremos con los datos promedios normales ya expuestos:

Sujetos cardíacos N <sup>o</sup>	A.N. sanguíneo normal.	A.N. urinario normal.	A.N. sanguíneo después inyección 50 mg.	A.N. urinario después inyección 50 mg.
9	0.433mg. %	3.770 mg.	0.631mg. %	50.865 mg.
11	0.527 "	3.222 "	0.739 "	45.165 "

Es bien manifiesto el bajo nivel sanguíneo en ácido nicotínico en los cardíacos afectados con la enfermedad de Hodgson. Varía en un caso poco la eliminación de ácido nicotínico normal urinario. Por últi-

no nos da un aumento muy alto del ácido nicotínico fijado por la sangre.- En la tabla de los valores normales de cardíacos, el ácido nicotínico calculado de fijación sanguínea para los sujetos 9 y 11 (Columna VII) asciende a 5.920 mg. y 3.628 mg. respectivamente. Como conclusión evidente, podemos asegurar que estos pacientes tienen un bajo nivel sanguíneo en ácido nicotínico, fijando gran parte de lo que pudiera aportarse.-

Los cardíacos números 16 y 17 poseen un bajo nivel sanguíneo en ácido nicotínico, fijando en su sangre una cantidad excesiva, lo que nos muestra su "deficit". Sin embargo no podemos asegurar que las insuficiencias cardíacas, el nivel sea inferior al de los sujetos normales en sangre.-

Por otra parte, trae aparejada lógicamente una eliminación inferior de ácido nicotínico urinario.-

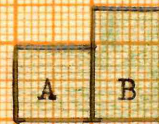
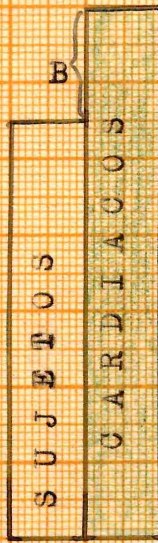
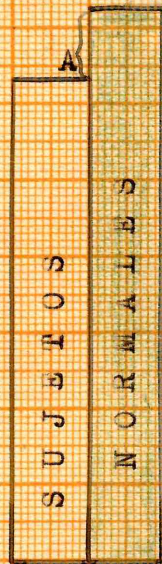
Además hay sujetos, tanto normales como cardíacos, que poseen un tenor en Acido Nicotínico inferior después de la administración de una dosis terapéutica. Sin embargo, en los promedios calculados para la eliminación urinaria hay que descontar de acuerdo con su volúmen, el Acido Nicotínico que ha excretado. Con ello no varía los cálculos apreciablemente. Esto es para los casos con diferencia negativa.

El verdadero valor demostrativo en lo relacionado al ácido nicotínico en los sujetos normales y cardíacos está tratado en la parte metabólica del factor antipelagroso que trataremos a continuación.-



INTERPRETACION GRAFICA  
DE LA NICOTINEMIA EN  
SUJETOS NORMALES Y  
CARDIACOS.

*Figura*



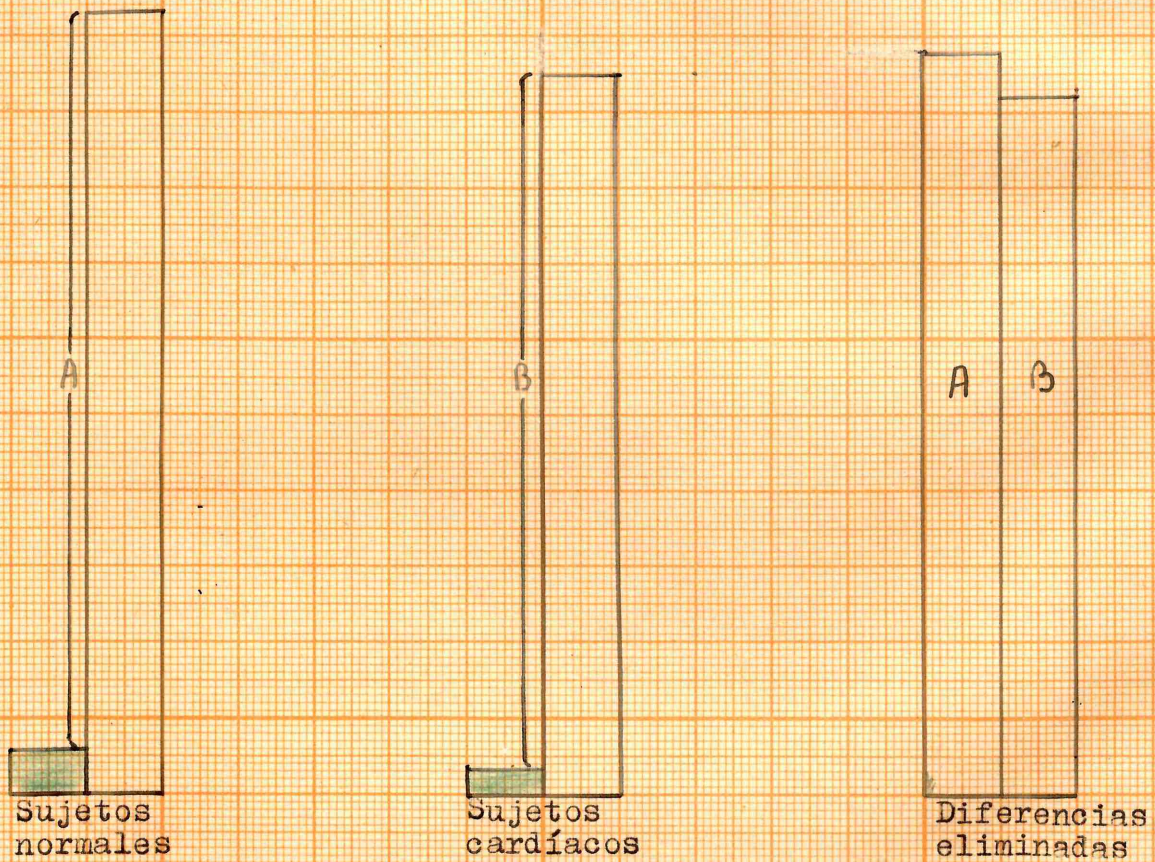
Diferencias Fijadas

→ Nicotinia normal.

→ Nicotinia 24 hs. despues de la administraci3n de 50 mg. de 1cido nicot3nico intramuscular.-



Interpretación gráfica de los promedios del ácido nicotínico urinario eliminado durante 24 horas, sin y con administración de 50 mg. intramuscular.-



Sujetos normales

Sujetos cardíacos

Diferencias eliminadas

→ Eliminación urinaria normal de ácido nicotínico durante 24 horas.

→ Eliminación urinaria de ácido nicotínico durante 24 horas siguientes a la administración de 50 mg. intramuscular



C A P I T U L O IX.-

METABOLISMO DEL ACIDO NICOTINICO Y DERIVADOS.-

No hay aún trabajos especializados sobre las etapas metabólicas del ácido nicotínico y sus derivados en el hombre, pero sí hay trabajos donde se informan los métodos para fraccionar distintas transformaciones sufridas por los derivados del ácido nicotínico.

Hay que tomar bien en cuenta dos tipos de metabolismo, acordado por algunos autores para el ácido nicotínico y sus derivados.-

El metabolismo tisular condicionaría la producción de trigonelina y el metabolismo renal, que conjugaría el ácido nicotínico a la glicina, teniendo como resultado la eliminación del ácido nicotínúrico. Si estos tipos metabólicos se realizan dentro del organismo humano; lógicamente la producción de trigonelina dependerá de la movilidad de los líquidos existentes en los tejidos, y la eliminación de mayor o menor cantidad de ácido nicotínúrico estará condicionado exclusivamente por el volumen renal.-

Si bien este criterio parecería ser el acertado, no puede descartarse cualquier otro mecanismo.-

El metabolismo del ácido nicotínico y derivados que se originan, es muy probable que no puede realizarse en la sangre, determinando las distintas fracciones, dado que está sometida constantemente variaciones, que dependen del momento, ingestión de ácido nicotínico y derivados y por sobre todas las cosas la constante eliminación renal que dan resultados dispares, por lo tanto, el índice metabólico estará presente en la orina. Por otra parte la avitaminosis o deficiencia del ácido nicotínico se manifiesta, como ya lo hemos dicho, por distintos síntomas o también por eliminación de sustancias que normalmente se encuentran en menor proporción en la orina, como la profirina, etc.-

Melnick, Robinson y Field (6),(7) han determinado los productos metabolizados del ácido nicotínico, en orina, usando dosis masivas y fraccionadas de este factor en sujetos adultos. En nuestras experiencias se han tenido en cuenta todos los detalles posibles, que estos autores manifiestan, para la regularidad en el trabajo.

Preparación de las fracciones metabolizadas del ácido nicotínico.-

Aplicación de la técnica de Harris y Raymond.-

Para realizar las determinaciones de las fracciones metabolizadas del ácido nicotínico, se ha sometido a la orina de sujetos normales y cardíacos a hidrólisis parciales. La orina siempre se tomó durante las 24 horas, y de ella, una fracción es sometida a los tratamientos hidrolíticos que detallaremos a continuación:

- a) ACIDO NICOTINICO TOTAL: Hidrólisis alcalina de acuerdo con la técnica de Harris y Raymond, ya expuesta.-
- b) TRIGONELINA.- Hidrólisis acida, con HCl 4N.-  
Se toman 25 c.c. de orina, agregar 5 ml. de HCl 4 N y calentar en baño maria hirviendo durante 5 horas, con tubo refrigerante pararrayo. Enfriar, neutralizar con NaOH al 40%. De aquí en adelante se sigue la técnica de Harris y Raymond. Se determina: ácido nicotínico + trigonelina.-
- c) ACIDO NICOTINURICO exclusivamente: Igual cantidad de orina y ácido que la determinación anterior, pero solamente 1/2 hora a baño maria hirviendo con tubo refrigerante ~~pararrayo~~. Neutralizar con NaOH al 40% y seguir la técnica de Harris y Raymond. Se determina de esta manera exclusivamente ácido nicotínurico.-

$$b - c = \text{Trigonelina.-}$$

$$a - b = \text{Acido nicotínico libre o su amida.-}$$

En nuestras experiencias hemos trabajado siempre con una muestra de orina de 24 horas, tomando el volumen total eliminado.-

METABOLISMO DE LA NICOTINAMIDA EN SUJETOS NORMALES DETERMINADO SOBRE ORINA DE 24 Hs.

Nº	Lugar y ficha y edad	Sexo	Nombre	Fecha	SANGRE		ORINA						
					Hemo-globi-na %	Ac. Nicotí-nico o ami-da. mg%	Acido nicotínico o amida li-bro mg. total	%	Mg. total	%	Trigonesina mg. total	%	Acido Nicoti-núrico mg. total
1	DP. 1565 26 años	M.	V.G.G.	2-II-46	82	0.684	0.882	12.04	3.510	47.98	2.426	34.60	7.33
2	DP. "	M.	"	6-II-46	80	0.613	1.040	13.61	4.110	53.85	2.375	31.11	7.634
3	DP. "	M.	"	9-II-46	84	0.690	0.980	13.03	3.846	51.17	2.524	33.59	7.514
4	- 24 años	M.	E.L.	15-II-46	88	0.596	0.922	14.09	3.698	56.30	2.223	33.97	6.542
5	"	M.	"	27-II-46	89	0.520	0.999	14.41	3.542	51.30	2.280	32.91	6.923
6	DP. 5958 14 años	F.	R.M.	2-III-46	84	0.715	0.794	13.51	2.922	49.74	2.135	36.34	5.834
7	"	F.	"	11-III-46	85	0.693	0.827	13.33	3.103	50.01	2.276	36.68	6.204
8	"	F.	"	18-III-46	87	0.734	0.802	13.93	2.963	51.60	2.184	38.03	5.742
9	- 18 años	M.	T.L.G.	18-III-46	86	0.722	0.905	12.61	3.617	50.64	2.521	36.69	7.142
PROMEDIOS.....						0.663	0.905	13.39	3.479	51.40	2.327	34.88	6.763

Sujetos normales a quienes se les ha administrado 0.100 g. NICOTINAMIDA por vía intramuscular. Dosificación en sangre a las 24 horas después y fraccionamiento de las distintas partes metabolizadas en orina eliminado durante las 24 horas siguientes a la inyección.-

2	DP. 1565 26 años	M.	V.G.G.	12-II-46	85	0.714	33.921	13.58	56.027	54.70	35.416	34.57	102.428
2	"	M.	"	26-II-46	85	0.696	15.470	15.27	58.321	57.58	33.811	33.38	101.287
3	"	M.	"	15-III-46	88	0.724	14.911	14.29	56.842	54.58	36.014	35.48	104.327
4	- 24 años	M.	E.L.	2-III-46	89	0.670	16.523	15.71	58.221	55.37	37.427	35.60	105.142
5	"	M.	"	19-III-46	88	0.632	15.875	15.41	58.360	56.64	34.218	33.33	102.977
6	DP. 5958 14 años	F.	R.M.	21-III-46	87	0.794	17.215	16.65	55.427	53.62	36.422	35.23	103.372
7	- 18 años	M.	T.L.G.	21-III-46	89	0.752	16.328	15.70	58.421	56.25	37.542	36.05	104.021
PROMEDIOS.....						0.712	15.749	15.23	57.374	55.53	35.836	34.81	103.365

METABOLISMO DE LA NICOTINAMIDA EN SUJETOS CARDIACOS, DETERMINADO COMO ORINA EN 24 HORAS

N°	Lugar, fecha y edad	Sexo	Nombre	Fecha	SANGRE		ORINA				Ac. Nicotínico total mg.	Diagnóstico		
					Hemo-globina %	Ac. Nicotínico total mg.	Ac. Nicotínico Amida libre, mg.	%	Trigonalina mg.	%			Ac. Nicotínico mg.	%
1	DP. 1139 69 años	F.	R.R.	15-II-46	85	0.451	1.235	15.48	6.026	76.85	0.819	10.39	7.975	Insuf. cardíaca con foco aórtico
2	"	F.	"	17-II-46	83	0.480	1.103	17.01	5.148	78.83	0.734	11.16	6.486	
3	"	F.	"	19-II-46	88	0.493	1.072	14.21	5.847	77.66	2.037	13.88	7.542	
4	DP. 6181 48 años	F.	A.J.	19-II-46	82	0.515	0.987	14.83	5.351	80.42	0.690	10.36	6.654	Insuf. cardíaca
5	"	F.	"	21-II-46	85	0.497	1.003	14.94	5.420	80.74	0.765	11.39	6.713	
6	DP. 6059 22 años	M.	O.G.	23-II-46	88	0.527	1.103	15.79	6.143	59.08	2.765	25.17	7.012	Soplo sistólico en punta.
7	"	M.	"	26-II-46	87	0.543	1.178	15.72	4.272	56.64	1.642	21.77	7.542	
8	DP. 6088 45 años	M.	A.K.	23-II-46	87	0.530	0.976	15.27	5.003	77.79	0.802	12.47	6.431	Insuf. cardíaca soplo sistólico
9	"	M.	"	25-II-46	84	0.513	0.847	14.31	5.144	86.93	0.927	15.66	5.917	
PROMEDIOS.....						0.505	1.056	15.27	5.439	74.99	1.020	14.69	6.919	

Sujetos cardíacos a quienes se les ha administrado 0.100 g. Nicotínica por vía intramuscular. Dosificación en sangre a las 24 horas después, y fraccionamiento de las partes metabolizadas en orina eliminadas durante las 24 horas siguientes a la inyección.

1	DP. 1139 69 años	F.	R.R.	8-III-46	88	0.627	62.543	65.03	25.777	26.80	12.168	12.65	96.15	Ins. cardíaca con foco aórtico.
2	"	F.	"	21-III-46	88	0.603	59.465	63.32	27.420	28.74	14.027	14.70	95.42	
3	DP. 6059 22 años	M.	O.G.	8-III-46	86	0.563	69.765	67.58	21.542	20.67	9.425	9.13	103.25	Ins. cardíaca
4	"	M.	"	21-III-46	85	0.587	68.420	67.52	24.743	24.41	8.750	8.64	101.32	
5	DP. 6250 70 años	F.	M.P.	25-III-46	89	0.643	56.357	59.47	24.422	25.77	15.741	16.61	94.769	Soplo sistólico en punta Insuf. cardíaca
6	DP. 6114 44 años	M.	D.L.	25-III-46	85	0.624	60.993	62.59	22.365	22.95	13.427	13.78	97.451	
PROMEDIOS.....						0.608	62.920	63.25	24.345	24.89	12.250	12.58	98.063	

También se ha realizado una determinación simultánea en sangre, una titulación de la Hemoglobina de la misma.-

A continuación se expone la tabla de resultados encontrados en sujetos normales y cardíacos para cotejar los resultados obtenidos.-

TABLA COMPARATIVA DE LOS PROMEDIOS ENCONTRADOS EN SUJETOS NORMALES Y CARDÍACOS, EXPRESADOS EN %.-

	Acido nicotínico	Trigonelina	Acido Nicotínico o su amida libre.	Acido nicotínico total determinado.-
Sujetos normales.	34.88%	51.40%	13.39%	99.67%
Cardíacos varios.	14.69%	74.99%	15.27%	104.95%

Después de agregados de 100 mg. de nicotinaida intramuscular. Orina total de 24 horas siguientes a la inyección.-

Sujetos normales.	34.81%	55.53%	15.23%	105.57%
Cardíacos varios.-	12.58%	24.89%	63.25%	100.52%

De la presente tabla de promedios encontrados se bien manifiesta la variación de los productos metabolizados existentes en los sujetos normales y cardíacos. Resalta la mayor variación sobre todo en el ácido nicotínico y trigonelina en los sujetos a quienes no se le han suministrado dosis de nicotinaida. Si se tiene en cuenta lo dicho anteriormente sobre metabolismo tiular, renal, se encuentra perfectamente explicado el aumento de trigonelina, sobre todo en aquellos sujetos de mayor edad, porque los datos suministrados por can-

díaco N° 6 y 7 de 22 años de edad, se alojan muy poco de los porcentajes normales de este compuesto. Lógico es pensar que ello se debe a la mayor o menor movilidad de los humores tisurales. Igualmente la variante para el ácido nicotínico en el mismo enfermo, es el que se encuentra más próximo a los sujetos normales. -

Después de la dosis de 100 mg. de nicotinamida por vía intramuscular, el sujeto cardíaco lo elimina más lentamente como veremos en la curva correspondiente, pero en este caso mucho menos metabolizado que en los sujetos normales. Parecería con esto, que el cardíaco tiene disminuida la posibilidad de conjugar o transformar la nicotinamida en sus derivados. Paradójicamente con ello, el sujeto normal metaboliza perfectamente y los porcentajes de derivados del factor PP se mantienen aproximadamente constantes.-

Ya hemos visto los porcentajes de eliminación normal en los distintos derivados metabolizados de la nicotinamida.-

En los sujetos cardíacos que poseen generalmente como consecuencia de su rónora circulatoria, estancamiento de los humores orgánicos y por lo tanto la producción de edemas, lógico es pensar entonces, que el metabolismo de la nicotinamida debe aumentar, pero no ocurre ello después de la administración intramuscular de una dosis terapéutica, dado que la nicotinamida tiene un función secundaria diurética, por lo tanto elimina esa dosis poco metabolizada, como lo demuestra la amplia variación inferior de trigonelina y el aumento de nicotinamida o ácido nicotínico libre, a la vez que disminuye el ácido nicotínico debido al metabolismo renal del factor PP., provocado por la poliurea nicotínica.-

Clinicamente los sujetos normales, como cardíacos poseían ríones no alterados, porque en casos de nefritis o de nefrosis, habrá una insuficiencia renal y por lo tanto una retención de los productos eliminados por dicho exantorio.-

CURVAS DE ELIMINACION DE SUJETO NORMAL Y CARDIACO.-

A continuación daremos la curva de promedios de eliminación de un sujeto normal joven y de un cardíaco igualmente joven, que si bien no son en este caso tan manifiestas las variaciones de sus metabolismos, pueden sin embargo ser apreciada.-

ELIMINACION DE 100 MG. NICOTINAMIDA INTRAMUSCULAR.-

Determinación a horas consecutivas a la inyección. Curvas correspondientes.

Normal: T.L.G. 18 años.-

1a. hora.....	84.425	mg. % de nicotinamida total.-
2a. hora.....	93.575	"
4a. hora.....	95.476	"
12a. hora.....	100.428	"
24a. hora.....	104.021	"

Cardíaco: O.G. 22 años.-

1a. hora.....	71.45	mg. %
2a. hora.....	82.365	"
4a. hora.....	90.03	"
12a. hora.....	99.047	"
24a. hora.....	103.231	"

Para realizar la curva de la página anterior, se han tomado promedios de eliminación en los sujetos tratados, dosificándose el ácido nicotínico total eliminado a distintas horas.-

Como consecuencia de los promedios, podemos asegurar que en general este cardíaco posee una rémora circulatoria, con poco volumen renal, comparado al normal.-



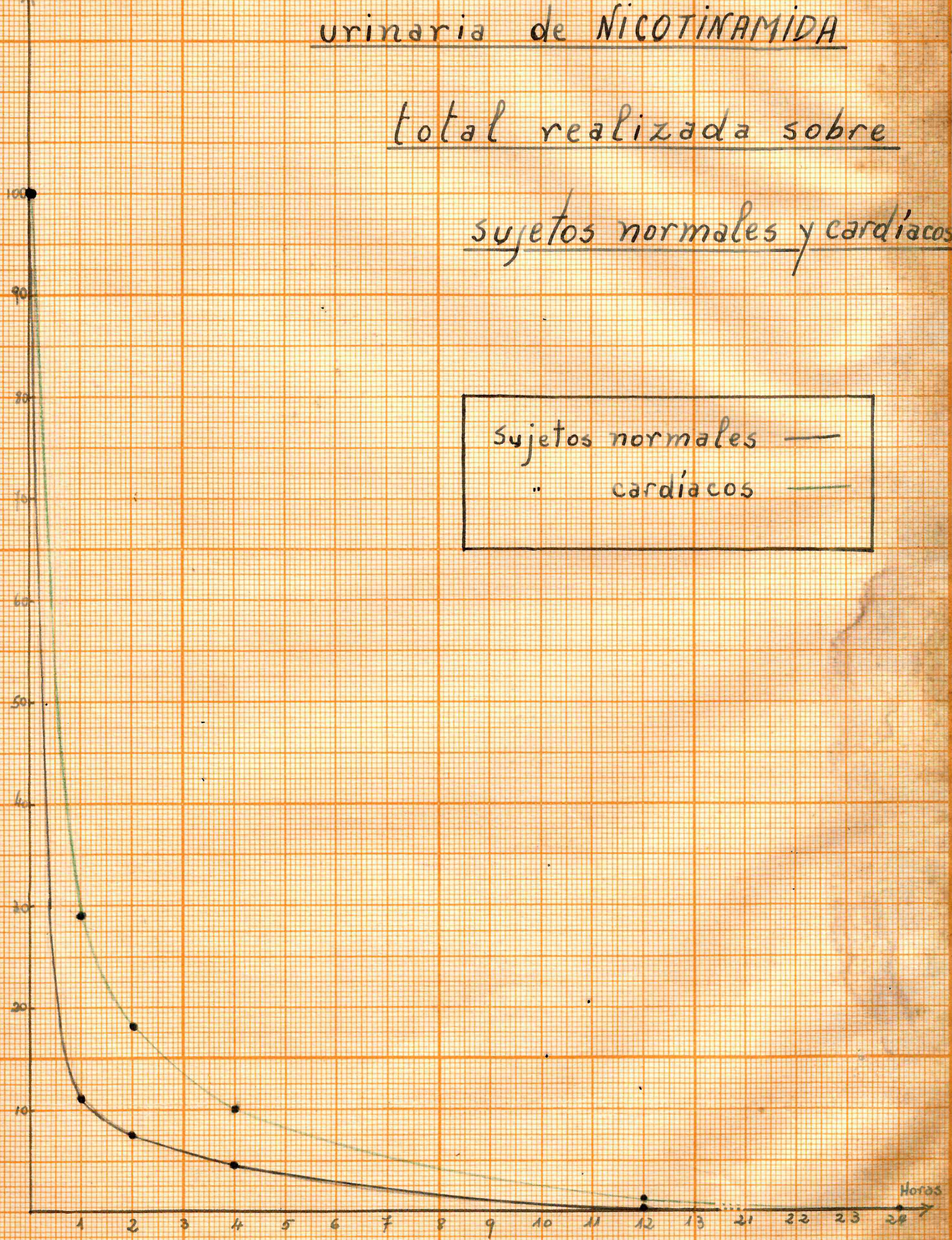
# Curvas de eliminación

urinaria de NICOTINAMIDA

total realizada sobre

sujetos normales y cardíacos

Nicotinamida  
mg.



Sujetos normales —  
" cardíacos —



## C A P I T U L O X

### CONCLUSIONES

- 1).- Los cardíacos poseen en general una nicotinemia levemente inferior a la de los sujetos normales.-
- 2).- La administración de ácido nicotínico (via intramuscular) en sujetos cardíacos da lugar a una eliminación inferior a la de los sujetos normales, explicándose este fenómeno como una retención por parte del organismo.-
- 3).- Los cardíacos metabolizan la vitamina antipelagrosa en forma alterada, con respecto a los sujetos normales.-
- 4).- Comparando el proceso de eliminación total del factor PP, fraccionado en porciones metabolizadas, durante el espacio de 24 horas posteriores a la administración de una dosis terapéutica, el sujeto cardíaco disminuye en forma amplia el tenor urinario de trigonelina, bajando levemente la eliminación de ácido nicotínico, aumentando la descarga de ácido nicotínico libre o su amida.-
- 5).- Por la diversidad de cardíacos tratados, es arriesgado afirmar que el factor antipelagroso tenga efectos benéficos sobre las cardiopatías, pero podemos asegurar que algunos fijan mayor cantidad que otros, sobre todo cuando el nivel es bajo.-

-----

# BIBLIOGRAFIA

## CAPITULO I

- 1).- Rosenberg H.R.: Chemistry and Physiology of the Vitamins, page 219 (1943).-
- 2).- Stepp W., Kuhnau y Schroeder, Las Vitaminas, pag.114 (1941).-
- 3).- Novelli A.Br., Química y Bioquímica de la Vitamina, Cap.IV, pag.101
- 4).- Williams R.R., J.Biol.Chem.28, 495 (1917).-
- 5).- Szymanska R.M. y Funk C.Chem.Zelle. u.Gewebe. 13,14 (1926).-
- 6).- Funk C. y Funk I.C., J.Biol.Chem.119, XXXV (1937).-
- 7).- Frost D.V. y Elvehjem C.A.J.Biol. Chem. 121,255 (1937).-
- 8).- Elvehjem C.A., Madden R.J., Strong F.M. y Wooley D.W., J.Am.Chem. Soc.58, 1767 (1937); J.Biol. Chem.123,137 (1938).-
- 9).- Koehn C.H.Jr. y Elvehjem C.A., J.Nutrition 11,67 (1936).-
- 10).- Sebrell W.H., Onstatt R.H.Fraser H.F. y Daft F.S., J.Nutrition 16, 355 (1938).-
- 11).- Street H.R. y Cowgill G.R., Proc.Soc.Exptl.Biol.Med.,37,547(1937)
- 12).- Elvehjem C.A., Physiol.Rev. 20,249 (1940).-
- 13).- Smith T.D., The Biological Action of the Vitamins (Editado por S.A.Evans, Jr.) The University of Chicago Press, Chicago (1940).-
- 14).- Knight B.C.J.O., Biological J. 31, 731 (1937).-
- 15).- Mueller J.H., J. Biol. Chem., 120, 219 (1937).-
- 16).- Koser S.A., Dorfman A.y Saunders F., Proc.Soc.Exptl.Biol.Med.,38 311 (1938).-
- 17).- Fildes P., Brit. J.Exptl. Path., 19, 529 (1938).-

-----

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

C A P I T U L O II

- 1).- Huber C., Ann.Chem. Pm., 141, 271 (1867) "Citado por Rosenberg".-
- 2).- Laiblin R., Ber. 10, 2131 (1877) "Citado por Rosenberg".-
- 3).- Weidel H., Ber. 12, 1989 (1879) "Citado por Rosenberg".-
- 4).- Suzuki U., Shimamura T. y Odake S., Biochem Z., 43, 89 (1912).-
- 5).- Funk C., J. Physiol., 46, 173 (1913); Brit. Med. J., 1, 814 (1913).-
- 6).- Vickery H.B., J. Biol. Chem., 68, 585 (1926).-
- 7).- Warburg O. y Chrystian W., Biochem Z., 274, 112 (1934).-
- 8).- Euler H.v., Albers H. y Schlenk F., Z. Physiol. Chem. 240, 113 (1936)
- 9).- Kuhn R. y Vetter H., Ber. 68, 2374 (1935).-
- 10).- Weidel H. y Hazura K., Monatsh. 3. 783 (1882) "Citado por Rosenberg".-
- 11).- Skraup Z.H. y Cobenzl A., Monatsh. 4. 458 (1883) "Citado por Rosenberg".-
- 12).- Skraup Z.H. y Vortmann G., Monatsh. 4, 594 (1883) "Citado por Rosenberg".-
- 13).- Fischer O., Ber. 15, 63 (1882) "Citado por Rosenberg".-
- 14).- Mc Elvain S.M. y Goese H.A., J. Am. Chem. Soc., 63, 2283 (1941).-
- 15).- Org. Synthesis, Coll. Vol. 1, 378 (1932).-
- 16).- Novelli A. Dr. Química y Bioquímica de las Vitaminas, Cap. VI, pag. 101 (1942).-
- 17).- Stepp W. Kuhnu y Schroeder H., las Vitaminas, pag. 114 (1941).-
- 18).- Skraup Z.H., Monatsh. 1, 800 (1880) "Citado por Rosenberg".-
- 19).- Skraup Z.H. y Cobenzl A., Monatsh. 4, 436 (1883) "Citado por Rosenberg".-
- 20).- Chemical Reviews 33, 185-208 (1943) .-
- 21).- Kuhn R. y Vetter H., Ber. 68, 2374 (1935).-
- 22).- Jahns E. Ber., 18, 2518 (1885) "Citado por Rosenberg".-
- 23).- Ackermann D., Z. Biol. 56, 17 (1912).-

C A P I T U L O II

- 24).- Holtz P., Kutscher F. y Thielman F., Z. Biol. 81, 57 (1924).--
- 25).- Subbarow Y. y Dann W.J., J. Am. Chem. Soc. 60, 2565 (1938).--
- 26).- Sarret H.P., Perlzweig A. y Levy S.D., J. Biol. Chem. 135, 483 (1940).--
- 27).- Kutscher F. y Iohmann A., Z. Physiol. Chem. 49, 81 (1906).--
- 28).- Ackermann D. y Kutscher F., Z. Untersuch. Nahr. Genussm. 14, 687 (1907).--
- 29).- Ackermann D., Z. Biol. 74, 67 (1922); Ackermann D., Holtz P. y Reinwein H., Z. Biol. 80, 131 (1924).--
- 30).- Subbarow Y., Dann W.J. y Weilsan S., J. Am. Chem. Soc. 60, 1510 (1938).--
- 31).- Scholic W. y Kutscher F., Z. Physiol. Chem. 52, 91 (1907).--
- 32).- Hoppe-Seyler F.A., Z. Physiol. Chem. 22, 105 (1933).--
- 33).- Liebig J. Am. Chem. Pharm. 6, 125 (1853) "Citado por Rosenberg".--
- 34).- Aldrich J. y Jones W., J. Exptl. Med. 2, 439 (1897) "Citado por Rosenberg".--
- 35).- Bandier A., On Nicotinic Acid, Especially Methods for its quantitative estimation in Organic Materials. J. Munksgaard, Copenhagen (194 ).--
- 36).- Woolley D.L., Strong F.M., Madden R.J. y Elvehjem G.A., J. Biol. Chem. 124, 715 (1938).--
- 37).- Strong F.M., Madden R.J. y Elvehjem G.A., J. Am. Chem. Soc. 60, 2564 (1938).--
- 38).- Subbarow Y. y Dann W.J., J. Am. Chem. Soc., 60, 2565 (1938).--
- 39).- Dorfman A., Roser S.A., Seames H.A., Swingle R.F. y Saunders F.J., Infectious Diseases 65, 163 (1939).--
- 40).- Knight S.C.J., Biochem J. 32, 1241 (1938).--
- 41).- Handy A., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 38, 504 (1930).--
- 42).- Spies T.D., Grant W. y Huff W.S., Southern Med. J. 31, 901 (1938).--
- 43).- Viltos J.P., Dean W.D. y Spies T.D., Southern Med. J. 31, 1163 (1938).--
- 44).- Spies T.D., Dean W.D. y Stone R.S., J. Am. Med. Assoc. 111, 584 (1938).--

C A P I T U L O   I I

- 45).- Snell E.S. y Wright L.D., J. Biol. Chem. 139, 675 (1941)
- 46).- Krehl W.A., Unpublished data.-
- 47).- Pelczar M.M. y Porter J.R., J. Bact. 39, 429 (1940).-
- 48).- Rosenberg H.R., Chemistry and Physiology of the Vitamins.  
Pag. 219 (1943).-

-----

## BIBLIOGRAFIA

### CAPITULO III

- 1).- Stepp W. Kuhlman y Schroeder H., Las Vitaminas, pág. 114 (1941).-
- 2).- Rosenberg H.P. Chemistry and Physiology of the Vitamins., Pág. 219, (1943).-
- 3).- Warburg O., Chrystian W. y Griese W., Biochem. Z., 282, 147 (1935)
- 4).- Kohn H.I., Klein J.R. y Dann W.J., Biochem. J. 33, 1432 (1939).-
- 5).- Warburg O. y Chrystian W., Biochem. Z., 274, 112 (1934); 275, 164, (1935).-
- 6).- Ohlmeyer P., Biochem. Z. 297, 66 (1938).-
- 7).- Warburg O. Chrystian W. y Griese W., Biochem. Z. 282, 147 (1935).-
- 8).- Adler E., Hellstrom H. y Euler H.v., Z. Physiol. Chem. 242, 225 (1936).-
- 9).- Warburg O. y Chrystian W., Helv. Chim. Acta. 19, 79 (1936).-
- 10).- Euler H.v. y Schlenk F., Z. Physiol. Chem. 246, 64 (1936).-
- 11).- Adler E. Elliot S. y Elliot L., Enzymologia 8, 80 (1940).-

-----

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

### C A P I T U L O   I V

- 1).- Stepp ., Kuhnau y Schroeder H., las Vitaminas, pág.114 (1941)
- 2).- Rosenberg H.R., Chemistry and Physiology of the Vitamins, pag.219 (1943).-
- 3).- Riffin y Smith, Journ.Clin.Invest. 17, 529 (1938).-
- 4).- Vilter R.W., Vilter S.P.y Spies T.D.,Am.J.Med. Sci.197,322(1939); J. Am.Med. Assoc. 112, 420 (1939).-
- 5).- Rhoads, Du Bois, Journ. Am.Med. Ass. 113, 300 (1939).-
- 6).- Bonafina Mario, Apartado de la revista de medicina y Ciencias afines, Año V, N° 5.-
- 7).- Horst H.G., Vitamine u. Hormone II, 269- 72 (1941).-
- 8).- Gobell Otto, Z. ges. exptl.Med. 109, 96-124 (1941).-
- 9).- Lavarello A.O., la Prensa Médica Argentina, pág.786 T.I, Cap.III (1940).-
- 10).- Virasoro J.B., Monsolú R., la Prensa Médica Argentina, pág.292 T.I (1943).-
- 11).- Von Grollman G. y Angel E., El Día Médico, año XII, n° 42(1940).-
- 12).- El Día Médico, pág. 220, año XII (1940).-
- 13).- El Día Médico , pag. 315, Año XII (1940).-
- 14).- Damianovich J., Ravizzoli R.A., La Semana Médica, pág.1441,48-2(1940)
- 15). Duke University Scholl of Medicina, Durham, North Carolina, J. Biol. chem. 151, 395-404 (1943).-
- 16).- Giovanni Giorgio y Vito Diomede-Fresa, Boll. Soc. Ital. Microbiol. 14, 22-6 (1942), Chem. Centr. I, 1901 (1943).-
- 17).- Handler Philips y Aehn Harry I., J. Biol. Chem. 150, 447-52(1943).-
- 18).- Nicotivana; Folleto de Instituto de Terapéutica Farmacológica, Buenos Aires.-
- 19).- Guggenheim M., Die Biogen Amine, New York 174 (1940).-
- 20).- Schermann D., Z. Biol. 57, 104 (1910).-



- 21).- Spies T.D., Grant, Stone, Mc Lester: South. Med. Journ. 31, 1231 (1938).
- 22).- Sivchjem C.A., Madden R.J., Strong F.F. y Wooley D., J. Am. Chem. Soc. 58, 1767 (1937); J. Biol. Chem. 123, 137 (1938).-
- 23).- Huff J. y Perlweig W.A., J. Biol. Chem. 142, 401 (1942).-
- 24).- Shourie K.L. y Swaminathan N., Indian Med. Research 27, 679 (1940).-
- 25).- Dann W.J. y Kohn H.L., J. Biol. Chem. 136, 435 (1940).-
- 26).- Dann W.J., J. Biol. Chem. 141, 303 (1941).-
- 27).- Gyorgy-Szent, Bruxelles Med. 1021 (1939).-
- 28).- Knight B.C.J.G., Biochem. J. 32, 1241 (1938).-
- 29).- Landy H., Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 38, 504 (1938).-
- 30).- Dorfman A., Koser S.A., Peacock H.R., Swingle R.F. y Saunders F.J., Infectious Diseases 65, 153 (1939).-
- 31).- Snell E.E. y Wright L.D., J. Biol. Chem. 139, 675 (1941).-
- 32).- Krehl W.A., Unpublished data.-
- 33).- Lwoff A. y Querido A., Compt. rend. soc. Biol. 129, 1039 (1938).-
- 34).- Euler H.v., Gunther G., Z. Physiol. Chem. 243, 1 (1936).-
- 35).- Spies T.D., Cooper C. y Blankenhorn, Journ. Am. Med. Assoc. 110, 622 (1938)
- 36).- Rhoads C.P. y Miller D.K., J. Exp. Med. 58, 585 (1933).-
- 37).- Spies T.D. Sasaki y Gross, South. Med. Journ. 31, 483 (1938)
- 38).- Watson, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 39, 514 (1939)
- 39).- Lavarello Aldo O., La Prensa Médica Argentina T.I, Cap. III, pag. 786 (1940).-
- 40).- Litter Manuel, La Semana Médica, T.I. pag. 1247 (1943).-
- 41).- Malaguzzi-Valeri G. y Paterno F., Gazz. Ospedali Clin. 20, 925-28 (1939)
- 42).- Malamud T., Monastirsky H., Socolinsky H. y Kaplan J., La Prensa Médica Argentina T.I. pag. 296 (1944).-
- 43).- Goldsmith G.A. y Cordill S., American Heart Journal, No. 1, Vol. 26, pag. 286, (1943).-
- 44).- Rachmilewitz M. y Braun K., American Heart Journal 1, 203 (1944).-
- 45).- Bansi H.W., Kalonke K., Che. Zentr. II, 660 (1940).-
- 46).- Blok S.R. y Katz L.S., J. Pharmacol. 75, 178-82 (1942).-

BIBLIOGRAFIA

CAPITULO V

- 1).- Snell E.y Wright I., J.Biol.Chem. 139, 675 (1941).-
- 2).- Dorfman A., Horwitt M.K., Koser S.A.y Saunders F., J.Biol.Chem. 128, proc.XX (1939).-
- 3).- Guerido A., Lwoff A.y Lataste C., Compt. Rend. des Séances de la Société de Biologie. CXXXI, 1580 (1939).-
- 4).- König. Journ. Prakt. Chem. 69, 105 (1904) (Cit. por Gettiner en Ob. Mit.
- 5).- Isbell H., Woolley J.G., Buttler R.S.y Sobrell W.H., J.Biol.Chem. 139, 409 (1941).-
- 6).- Vilter S.P., Spies T.D.y Mathews A.F., J.Biol.Chem. 125, 85 (1938).-
- 7).- Karrer y Keller, Helv. Chem. Act. 21, 436 y 1170 (1938).-
- 8).- Covello M., Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 13, 1021 (1938).-
- 9).- Melnick S.y Field H.J., J.Biol.Chem. 134, 1 (1940).-
- 10).- Swaminathan N., Nature 141, 830 (1938).-
- 11).- Pearson P.B., J.Biol.Chem. 129, 491 (1939).-
- 12).- Askeloff y Holmberg, Chem. Abst. 53, 8229 (1939).-
- 13).- Porjé J.G., Nord. Med. 2, 1108 (1939); Chem. Abst. 34, 463 (1940).-
- 14).- Kringstad y Mess, J.Biol.Chem. 129, 324 (1939).-
- 15).- Shaw G.B.y McDonald C.A., Quart. J. Pharmacol. 11, 380 (1938).-
- 16).- Euler von H. Schlenck F., Heiwinkel H.y Hogberg H. Hoppe Seyler's Z. 256, 208 (1938).-
- 17).- Bandier y Wald, Biochem. J. 24, 712 (1940).-
- 18).- Perlzweig W.A., Levy E.D.y Sarret H.P., J.Biol.Chem. 136, 729 (1940)
- 19).- Dann W.J.y Handler P., J.Biol.Chem. 140, 201 (1941).-
- 20).- Martinek R.G., Kirch E.R.y Webster C.L., J.Biol.Chem. 149, 245 (1943).
- 21).- Sarret H. P., J.Biol.Chem. 150, 159 (1943).-
- 22).- Arnold A., Schreffer C.B.y Lipsius S.T., Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 13, 62-63 (1941).-
- 23).- Koll.C.L.y Jensen O.G., J.Biol.Chem. 140., 755- 62 (1941).-

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

PARTE EXPERIMENTAL

C A P I T U L O S VI-VII-VIII-IX

- 1).- Kodicek E., Biochem. Journ.34, 712-34 (1940).-
- 2).- Marenzi A.D., Fotometría y su aplicación al análisis biológico, pág. 93 (1940).-
- 3).- Marenzi A.D., Fotometría, pág. 96-8 (1940).-
- 4).- Harris L.J. y Raymond W.D., Biochem Journ.33, 2037 (1939).-
- 5).- Tesis, Fac.de Química y Farmacia, La Plata, 1612, pág.101 (1943).-
- 6).- Melnick D. and Field H.Jr., J.Biol.Chem. 135,53 (1940).-
- 7).- Melnick D., Robinson W.D. y Field H.Jr., J.Biol. Chem. 136, 145 (1940).-



-----