

## ESTUDIO DE UN NUEVO QUIMIOTERAPICO MERCURIAL

### I. Toxicidad

Drs. PLUTARCO NARANJO, ENRIQUETA DE NARANJO y GALO HIDALGO  
Facultad de Medicina y Laboratorios "Life",  
Quito

A pesar de los progresos en el tratamiento de las infecciones, continúa la incesante búsqueda de nuevos antibióticos y quimioterápicos. Ya por el aumento de cepas resistentes a los agentes antibacterianos que se han utilizado por unos años, ya también por la necesidad de contar con drogas más eficientes, es decir más potentes y menos tóxicas, la síntesis de nuevos quimioterápicos ha continuado aún con mayor intensidad que antes.

Se han obtenido nuevos compuestos en grupos farmacodinámicos bien conocidos, como de las sulfamidas<sup>1-2</sup> o de los nitrofuranos<sup>3-4</sup>, así como otros con muy variada estructura química<sup>7-9</sup>.

El presente trabajo se refiere a varios aspectos toxicológicos de un nuevo agente antibacteriano, sintetizado por The Saltec Corp. Pittsfield, el estearato sulfonato (octadeciltrimetil amonio) mercúrico (S-200, Contactin), el mismo que resulta de la inter-reacción de los radicales sulfonados ácidos, dos amonios cuaternarios y un mercurio unidos a una cadena lateral.

La investigación abarca dos series experimentales: la una correspondiente a la intoxicación aguda, con determinación de la  $DL_{50}$  y la otra, de intoxicación crónica, con el respectivo estudio hispatológico.

### MATERIALES Y METODOS

**Serie I. Intoxicación aguda.**— El estudio de la intoxicación aguda se realizó sobre ratones adultos de 20 a 24 gm. de peso corporal y sobre conejos adultos de 1,3 a 1,6 kg. En los ratones se determinó la dosis letal media ( $DL_{50}$ ) de la sustancia S-200, tanto administrándola por vía subcutánea como por vía intravenosa. En los conejos se determinó la  $DL_{50}$ , sólo por vía intravenosa. Para la determinación de la  $DL_{50}$  se ensayaron varias dosis de la droga, cada una de las cuales se administró a un grupo de por lo menos 5 animales. Para comparación se ensayaron también otras sustancias.

**Serie II. Intoxicación crónica.**— Para



este estudio se seleccionaron ratones de 4 semanas de edad y 10 gm. de peso corporal a los cuales se les subdividió en grupos de tratamiento. La droga se añadió al agua de consumo, de modo que los animales bebieran *ad-libertum*. Se ensayaron concentraciones desde  $10^{-7}$  hasta  $10^{-8}$ . Hubo un grupo testigo el cual no recibió la droga. Todos los animales recibieron la misma dieta y se les sometió a iguales condiciones ambientales. Cada 48 horas se pesó a los animales. En una subserie, el tratamiento con la sustancia S-200 se suspendió después de 10 días y los animales volvieron a tomar solamente agua.

Para el examen histopatológico, la administración continuó hasta completar 4 meses, después de lo cual se sacrificaron a los animales y se hicieron las correspondientes preparaciones de corazón, hígado, bazo, páncreas, riñones y testículos.

**Substancias utilizadas.**— El estudio de la intoxicación aguda en los ratones, se hizo comparativamente con otras substancias que podían tener algún parentesco farmacodinámico o químico con la sustancia S-200. Se ensayaron las siguientes substancias: cetrimide (Cetavión), un detergente catiónico con nitrógeno cuaternario; el thiomerosal (Merthiolate) y el merbromin (Mercurocromo), antisépticos mercuriales; la mercurophylina (Mercuriprin), un diurético mercurial y gallamine (Flaxedil) y el bromuro de hexametilén-1,6-biscarbaminoilcolina (Imbrentil), dos curarizantes de síntesis con nitrógenos cuaternarios.

## RESULTADOS

**Serie I. Intoxicación aguda.**— La sustancia S-200, en ratones y en dosis tóxicas, provoca un profundo cuadro depresivo psicomotriz. Entre 10 y 15 minutos después de la administración subcutánea de la droga comienza a erizarse el pelo, los animales caminan menos, lo hacen con cierta dificultad y formando con la columna vertebral un arco de fuerte convexidad superior. Se produce bradipnea con movimientos respiratorios abdominales fuertes, que alterna con períodos de taquipnea. Más tarde se produce cierto grado de relajación muscular, particularmente de las extremidades posteriores, los animales adoptan la posición de decúbito ventral o lateral y así permanecen por varias horas, durante las cuales se acentúa la bradipnea hasta que finalmente los animales mueren.

Con dosis próximas a la  $DL_{50}$  la muerte se produce entre 8 y 15 horas después de la inyección. Con dosis más altas el cuadro de intoxicación aguda es más intenso y los animales mueren más prontamente, pero siempre después de varias horas de la administración de la droga.

El cuadro de intoxicación aguda, cuando la droga se administra por vía intravenosa, difiere apreciablemente del descrito anteriormente y que corresponde a la administración por vía subcutánea. Los ratones al recibir las dosis subletales, salen en rápida carrera inmediatamente de terminada la inyección. Luego caen en decúbito ventral, hay apnea momentánea, después



los animales se incorporan y se recuperan rápidamente. Con dosis letales, hay la carrera inicial, luego los animales caen en decúbito, la respiración

profundamente deprimida y de tipo abdominal y mueren antes de completarse el primer minuto después de la inyección.

TABLA I

DOSIS LETAL MEDIA (DL<sub>50</sub>) DE S-200 Y OTRAS SUBSTANCIAS

Ensayo en ratones, por vía subcutánea

Substancia	Número animales	DL <sub>50</sub> mg/kg	Error estándar
S—200	25	78	5,2
Cetrimide (Cetavión)	25	72	7,3
Merbromin (Mercurocromo)	20	175	16,8
Mercurophylina (Mercupurin)	30	748	60,0
Gallamine (Flaxedil)	20	16	1,8
Hexametilen carbaminoilcolina (Imbretil)	15	0,87	0,1

En los conejos y con dosis subletales se aprecia en los primeros 5 minutos depresión respiratoria, impotencia funcional de las extremidades anteriores, en forma un tanto parecida a lo que sucede cuando se administran sustancias curarizantes. La cabeza cae hacia adelante o lateralmente y en esta posición los animales permanecen por 15 o 20 minutos, luego comienza la recuperación. Con dosis letales, entre 2 y

3 minutos después de la inyección, los animales resbalan sobre sus extremidades anteriores y apoyan el tórax sobre el suelo (posición de mahometano en oración), luego caen en decúbito lateral, chillan, hay cianosis, movimientos incoordinados de las extremidades posteriores y finalmente los animales mueren.

Determinación de la DL<sub>50</sub>.— Las tablas I y II presentan los resultados



obtenidos en la determinación de la  $DL_{50}$  de la sustancia S-200, así como de las otras sustancias utilizadas, para comparación.

**Comparación con otras sustancias.—** La  $DL_{50}$  del Merthiolate y el Cetavión fue bastante cercana a la de S-200, en cambio el Mercurocromo resultó

aproximadamente 2 veces menos tóxico que el S-200. En cuanto al diurético Mercupurin, resultó de baja toxicidad, aproximadamente 10 veces menos tóxico que el S-200. Los dos curarizantes ensayados y particularmente el Imbretil resultaron mucho más tóxicos que el S-200.

TABLA II

DOSIS LETAL MEDIA ( $DL_{50}$ ) DE S-200 POR VIA INTRAVENOSA

Especie	Número animales	$DL_{50}$ mg/kg	Error estándar
Ratón	20	16,8	1,12
Conejo	16	23,6	2,41

En cuanto al cuadro sintomático de intoxicación, tanto el del Cetavión como el de los dos antisépticos mercuriales (Merthiolate y Mercupurin) fue bastante parecido al de S-200. Predomina la depresión respiratoria así como de los movimientos voluntarios. Comparativamente entre el Merthiolate y el S-200, esta última droga produce un cuadro más fuertemente depresivo. Con las tres drogas hay erizamiento de pelo y la muerte se produce tardíamente entre 15 y 35 horas después de la administración.

El diurético mercurial (Mercupurin) presentó un cuadro tóxico completamente distinto. Predomina un cuadro de excitación motora, con movimientos

rápidos, convulsiones tónicas y los animales mueren en extensión forzada. En la fase final hay depresión respiratoria. Los animales mueren entre 20 y 60 minutos después de la administración de la droga.

Con los curarizantes de síntesis se observó un cuadro de intensa relajación muscular, especialmente de las extremidades posteriores; bradipnea con fuertes movimientos respiratorios abdominales. Con dosis subletales de Flaxedil se recuperan entre 2 y 3 horas después de la administración de la droga, con el Imbretil se recuperan entre 7 y 10 horas después. Cuando se administran dosis letales, la muerte es bastante precoz entre 8 y 20 minutos



después de haber administrado la droga.

**Efecto acumulativo.**— En razón de la muerte tardía que provoca la sustancia S-200 por vía subcutánea, se realizaron también ensayos preliminares para observar si hay tendencia acumulativa de la droga. El ensayo se efectuó en conejos, administrando la droga por vía intravenosa, pero en forma fraccionada, a razón de 5 mg/kg de peso en unos animales y 10 mg/kg de peso en otros, cada dosis se repitió a los 10 minutos de la anterior. La dosis letal estuvo entre 25 y 30 mg/kg de peso lo que revelaría que la droga tiene tendencia acumulativa segura-

mente debida a una lenta metabolización y lenta eliminación.

**Serie - II. Intoxicación crónica.**— Las modificaciones de peso de los animales sometidos a tratamiento crónico con S-200 se encuentran en la figura 1. Los animales que debían beber la solución más concentrada de S-200 ( $10^{-8}$ ), dejaron de aumentar de peso durante los 10 primeros días, para luego comenzar a aumentar a un ritmo inferior al de los animales normales. Al cabo de 40 días de tratamiento, tuvieron un peso 15% menor que los animales testigos. En los animales que bebieron soluciones menos concentradas este efecto fue menos intenso. Los que bebieron la

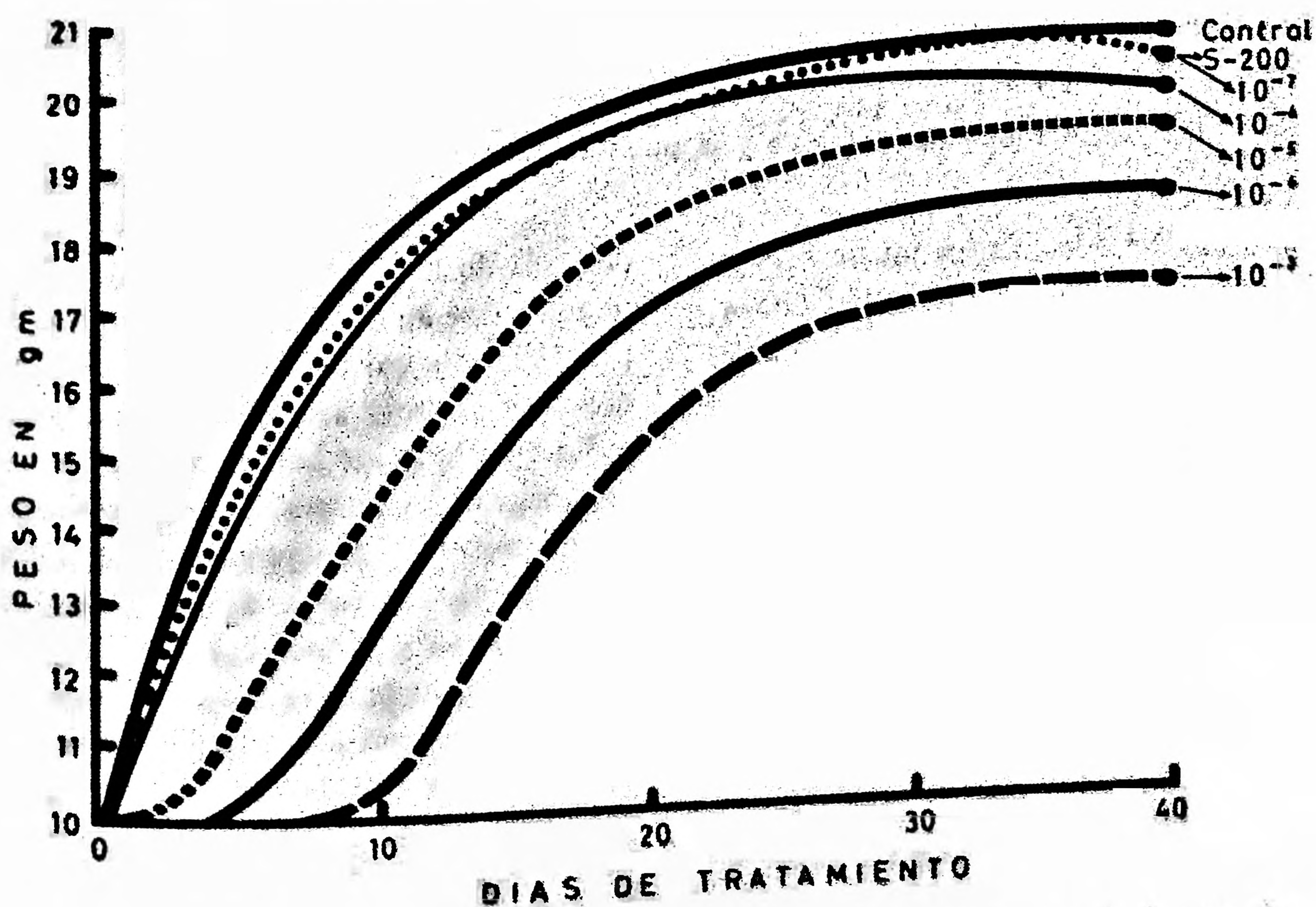


Fig. 1.—Crecimiento de los ratones tratados con S-200.—Curvas del aumento de peso de animales sometidos al tratamiento con S-200. Cada grupo de animales bebió una solución de S-200, en vez de agua pura. Cada grupo constó de 5 animales.



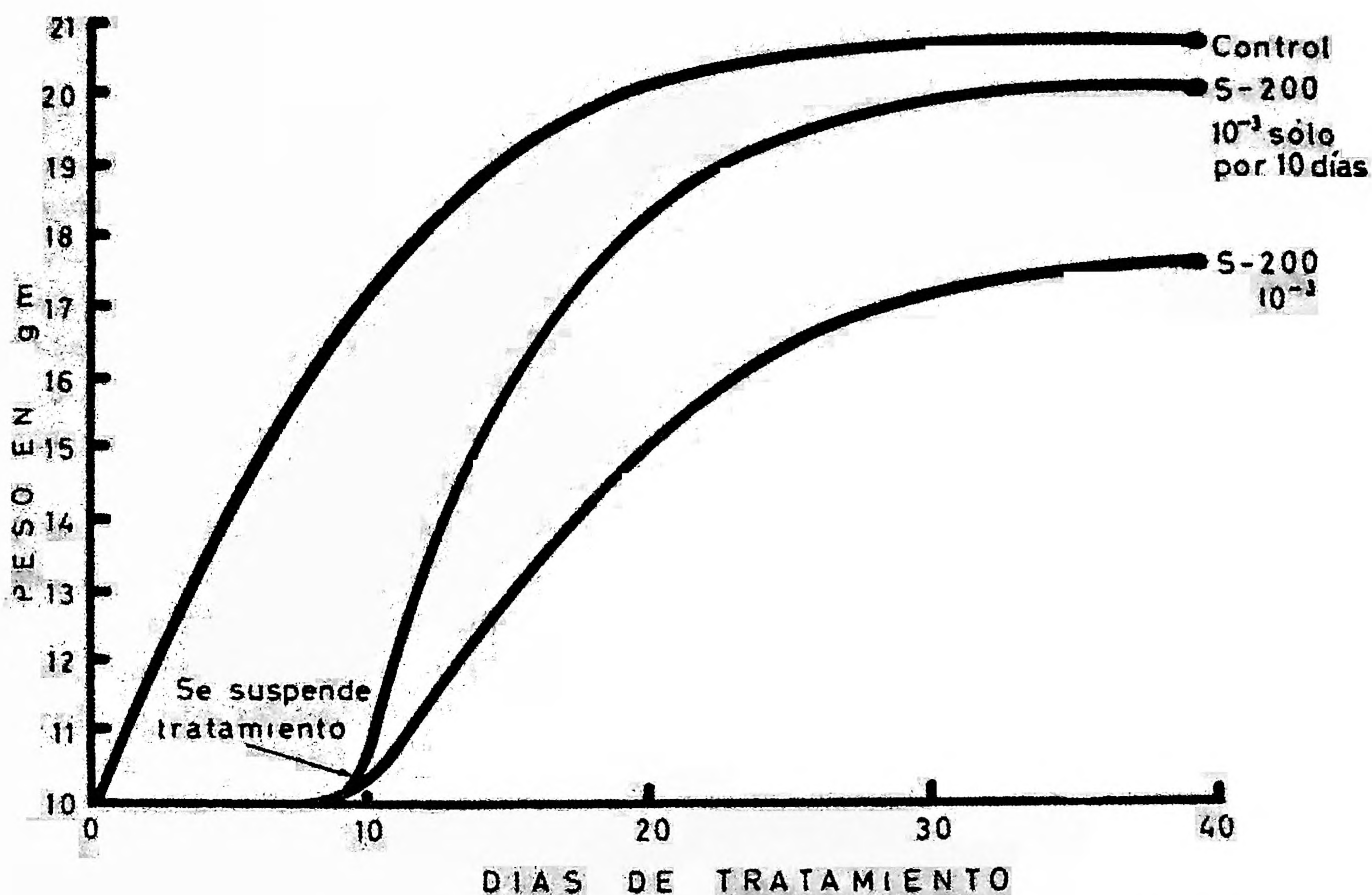


Fig. 2.—Interrupción precoz del tratamiento con S-200.—La suspensión del tratamiento con una solución de S-200 a  $10^{-3}$ , a los 10 días de iniciado éste, permitió a los animales, crecer a un ritmo acelerado y alcanzar un peso cercano al normal.

solución  $10^{-4}$ , alcanzaron un peso sólo 10,8% menor que los testigos. Con la solución  $10^{-5}$  la diferencia no fue significativa y los que tomaron las soluciones  $10^{-6}$  y  $10^{-7}$ , no presentaron diferencias de crecimiento, frente a los testigos. Los animales que bebieron las soluciones más concentradas, bebieron un volumen inferior de líquido que los otros animales, posiblemente el sabor de la substancia produce un reflejo inhibitorio y el crecimiento disminuido podría deberse tanto a esta menor ingestión de líquido cuanto a efectos verdaderamente tóxicos de la droga.

Cuando se suspendió el tratamiento

después de los 10 primeros días, como puede verse en la figura 2, los animales prontamente volvieron a un ritmo de crecimiento muy semejante al normal.

En cuanto a los hallazgos histopatológicos, en los animales que bebieron la solución más concentrada ( $10^{-3}$ ), se observaron evidentes alteraciones en hígado, bazo y riñones. En el hígado se observaron alteraciones degenerativas discretas con anisocariosis y degeneración albuminosa. En algunos animales hubo alteraciones nucleares, sobre todo a nivel de la periferia de los lobulillos y casiolisis en las células de los travéculos centrolobulillares. En el bazo se observó notable aumento de



megacariocitos y de elementos mieloides en los sinusoides medulares. En el riñón, moderada congestión de los glomérulos y de los vasos medulares.

En los animales que bebieron la solución  $10^{-4}$ , hubo lesiones del mismo tipo, pero mucho más leves que en el grupo anterior y, en los animales que bebieron soluciones más diluídas, no se observó ninguna alteración histopatológica.

### DISCUSION

De los resultados relatados es interesante poner de relieve el que dos grupos de sustancias químicamente disímiles como es el Cetavlón, con nitrógeno cuaternario y los antisépticos mercuriales sin nitrógeno cuaternario presentan un cuadro de intoxicación aguda muy semejante entre sí. La sustancia S-200 que también presenta un cuadro depresivo de intoxicación ofrece pues cierta similitud con los dos grupos. Por otra parte, es evidente, en los ensayos tanto en ratones como sobre todo en conejos, que la S-200 tiene cierto efecto relajante sobre la fibra muscular parecido al de las sustancias curarizantes, desde luego la intensidad de este efecto es inferior a las 2 drogas utilizadas para comparación, el Flaxedil y el Imbretil. Estas dos sustancias, en cambio, son mucho más tóxicas que el S-200; pero el S-200 ni a dosis letales da el grado de relajación muscular que las sustancias curarizantes.

Finalmente hay que insistir en que a pesar de ser ensayos preliminares, parece evidente que el S-200 tiende

a acumularse en el organismo y probablemente tiene un metabolismo y eliminación muy lentos.

### CONCLUSIONES

1) La sustancia S-200 produce en los ratones, por vía subcutánea, un cuadro de intoxicación aguda caracterizado por fuerte depresión psicomotora y respiratoria, de varias horas de duración.

2) El cuadro tóxico se parece el producido por Cetavlón, Merthiolate y Mercurocromo. También se parece parcialmente al provocado por Flaxedil e Imbretil. Difiere marcadamente del provocado por Mercurpurin.

3) La  $DL_{50}$ , en ratones, por vía subcutánea es 78 mg/kg por vía intravenosa 16,8mg/kg.

4) Hay indicios de que el metabolismo y/o la eliminación del S-200 es muy lento y la droga tiende a acumularse en el organismo.

5) La bebida de soluciones de S-200, en vez de agua pura, produce en los ratones, inhibición del crecimiento pero sólo a concentraciones superiores a  $10^{-4}$ . A esas mismas concentraciones, hay alteraciones histopatológicas en el hígado y el bazo.

### SUMMARY

Some toxicological aspects of stearate sulphonate (octadecyl-trimethyl ammonium) mercuric (S-200), a new chemotherapeutic agent were studied.

Toxic doses of S-200, administered by subcutaneous injection, produce in



mice a deep psicomotor and respiratory depression which lasted several hours. The LD<sub>50</sub>, in mice, by subcutaneous way was 78 mg/kg, and intravenously, 16,8 mg/kg.

Because of some chemical relationships between S-200 and other compounds, their toxic effects were compared. It was found that cetrimide, thiomerosal and merbromin, as well as two curare-like substances: Flaxedil and Imbretil, produced depressive effects similar to S-200. Mercupurin produced excitation.

It appeared that the metabolism of S-200 and/or its elimination was very slow and that it tends to accumulate in the body.

Sipping S-200 solutions produced inhibition of the growth of mice if its concentration was higher than 10<sup>-4</sup>. In these cases pathological changes in the liver and spleen were observed.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.—BRANDMAN, O. y ENGELBERG, R.: Metablism studies with Ro 4-2130, a new sulfonamide. *Curr. Ther. Res.* 2: 364, 1960.
- 2.—HOLLOMAN, J. F. S. y col.: Clinical experience with a new sulfonamide, sulphamethoxazole. *Appl. Ther* 3: 775, 1961.
- 3.—RUSSO, R., PEPITONE, V., VANNA, F. De: Sull' attività antibatterica "in vitro" di un nuovo chemoterapico: il 2-acetamido-4-(5nitro-2fural)-tiazolo. *Min Med.* 54: 2433, 1963.
- 4.—ROMANO, C.: Primi risultati clinici sull' Impiego in urologia di un nuovo derivato nitrofuranico. *Min Med.* 54: 2436, 1963.
- 5.—HOWIE, J. W.: Recent developments in Chemotherapy. *Lancet* I: 1137, 1962.
- 6.—BONATI, F., BERTONI, L.: Derivati basici dell'acido piperazin-2-carbonico ad azione antimicobatterica. *Min. Med.* 53: 1704, 1962.
- 7.—SELENKA, F.: Zur antimikrobiellen Aktivitat von N<sup>1</sup>, N<sup>4</sup>- Dekamethylen-N<sup>4</sup>, N<sup>1</sup>- dekamethylen-bis-4-amino-chinaldinium-diazetat (Salvizol). *Med. Klin.* 58: 1465, 1963.
- 8.—SUNDMAN, V., & SUNDMAN, J.: Bacterial growth inhibiting effect of some phloroglucinol derivatives. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 53: 345, 1961.
- 9.—GALE, G. R., WELCH, A. M., & HYNES, J. B.: Pharmacology of certain antimicrobial N<sup>1</sup>, N<sup>4</sup>-substituted biguanides. *J. Pharmacol. & Exper. Therap.* 138: 277, 1962.