

R. Esp. Fisiol.
Tom. II, num9. 3 y 4, páginas 411 a 420. 1946.

Cátedra de Fisiología de la Facultad de Medicina de Barcelona
(Prof. J. Jiménez Vargas)

Sobre la toxicidad del 2-Sulfanilamido- 4-Metiltiazol

por J. JIMÉNEZ VARGAS y J. MONCHE ESCUBÓS

(Recibido para publicar el 1 de Noviembre de 1946)

Introducción

Hace algún tiempo prestamos atención especial al estudio de la toxicidad de ciertos derivados azosulfanilamídicos (J. JIMÉNEZ VARGAS y J. MONCHE ESCUBÓS (1) en relación con otros trabajos nuestros, entonces en pleno período de realización.

Dado su amplio campo de aplicación clínica, se ha estudiado profusamente la toxicidad de los derivados sulfanilamídicos, a fin de precisar datos fundamentales y decisivos para su empleo terapéutico.

Entre los derivados introducidos con general aceptación figura, como es sabido, el sulfanilamidotiazol, de escasa toxicidad bien conocida. En cambio viene llamándonos la atención poderosamente desde hace tiempo, la serie de datos poco concordantes que se observan en la literatura, sobre la toxicidad del sulfanilamidometiltiazol, de tal modo que mientras W. H. KAMMERER, M. KALKSTEIN y S. SOLOMON (2) afirman por ejemplo que la sintomatología tóxica de este compuesto es similar a la de otros derivados sulfanilamídicos, salvo en lo concerniente a la aparición de neuropatías periféricas, que ocurre en el uno por ciento de los casos, aproximadamente; ROBERT E. SHANK, RICHARD W. MAXWELL y GEORGE S. BOZALIS (3), deducen en cambio que es en general algo menos tóxico que la sulfanilamida, dándoles resultados excelentes

en veintinueve casos, en los cuales no se presentó síntoma alguno de neuritis periférica, a pesar de llamar la atención dichos autores sobre el hecho de no haber sido lanzado jamás al mercado el producto en los Estados Unidos, en los que se halla prohibido en lo sucesivo su uso clínico.

Sospechando por nuestra parte que tales diferencias obedecieran a la calidad del producto empleado por unos u otros autores, más que a la especie química en sí, mayormente si se tiene en cuenta la escasez de datos concretos al efecto que se observa en los trabajos de este tipo, hemos considerado del mayor interés, como contribución a la terapéutica sulfanilamídica, investigar la influencia de la calidad del producto en sus efectos tóxicos, sobre todo habida cuenta de que dada la escasa solubilidad característica de este tipo de combinaciones y su condición de anfolitos, la mayoría de derivados sulfanilamídicos y la propia sulfanilamida que circulan en el comercio para uso clínico, son productos obtenidos por precipitación de sus derivados (sales) alcalinos o de sus clorhidratos, operando al pH correspondiente al punto isoeléctrico en cada caso.

Así pues hemos realizado una serie de ensayos comparativos entre la toxicidad respectiva de los derivados sódicos del 2-sulfanilamido-4-metiltiazol y del 2-sulfanilamidotiazol, procedentes de los inyectables comerciales, y la correspondiente a las «aguas madres» de precipitación de dichos compuestos y al derivado sódico del 2-sulfanilamido-4-metiltiazol, obtenido previa cuidadosa purificación de éste mediante una serie de recristalizaciones *hasta punto de fusión constante* del producto a los 237° característicos. A continuación exponemos los ensayos efectuados y resultados obtenidos, operando sobre ratones.

Parte experimental

Experiencias realizadas con el 2-sulfanilamido-4-metiltiazol

Se determinó primero experimentalmente la dosis mortal para ratones de 16 grs. de peso, correspondiente a un preparado comercial consistente en el derivado sódico del 2-sulfanilamido-4-metiltiazol contenido en ampollas de 10 c. c. para uso endovenoso, a la concentración del 10 por 100. Como

punto de partida para fijar la dosis inicial, tuvimos en cuenta los datos que figuran en la literatura. La administración del fármaco se efectuó por vía subcutánea.

ENSAYO NUM. 1

Ratones	Peso en gramos	Dosis inyectada	Substancia contenida	Gramos por kg. de animal	Resultados
1	16	0,19 c. c.	0,019 grs.	1,18	Vive
2	»	0,22 »	0,022 »	1,37	»
3	»	0,25 »	0,025 »	1,56	»
4	»	0,27 »	0,029 »	1,81	»
5	»	0,32 »	0,032 »	2	»
6	»	0,35 »	0,035 »	2,18	Muere a las 4 h.

ENSAYO NUM. 2

Ratones	Peso en gramos	Dosis inyectada	Substancia contenida	Gramos por kg. de animal	Resultados
1	20	0,35 c. c.	0,035 grs.	1,75	Muere a las 6 h.
2	»	»	»	»	» » » 9 »
3	»	»	»	»	» » » 8 »
4	»	»	»	»	» » » 8 »
5	»	»	»	»	Vive
6	»	»	»	»	Muere a las 7 h.

ENSAYO NUM. 3

Ratones	Peso en gramos	Dosis inyectada	Substancia contenida	Gramos por kg. animal	Resultados
1	15	0,30 c. .	0,030 grs.	2,00	Mueren t o d o s
2	»	»	»	»	entre las cua-
3	»	»	»	»	tro y siete ho-
4	»	»	»	»	ras de practi-
5	»	»	»	»	cada la inyec-
6	»	»	»	»	ción.

ENSAYO NUM. 4

Se partió del sulfanilamidometiltiazol en substancia, de un preparado comercial en comprimidos, para uso clínico. El producto se presenta en forma de polvo amorfo, de color amarillo y punto de fusión 229-230°, con reblandecimiento desde los 216°. Se purificó transformándolo en clorhidrato, para reprecipitarlo a pH de 7,3, aproximadamente, partiendo de 30 centímetros cúbicos de una disolución de clorhidrato al 20 por 100. Filtrado el producto, obtenido mediante precipitación con reactivos inocuos, se inyectaron las aguas de precipitación a la dosis de 0,90 c. c. sobre seis ratones de 16 gramos de peso.

Resultados. — Mueren todos los ratones dentro de la primera hora de practicada la inyección.

El punto de fusión del producto reprecipitado, una vez seco, ascendió a 230-233°, reblandeciéndose alrededor de los 225°. El líquido inyectado contenía, por lo tanto, las principales impurezas.

ENSAYO NUM. 5

Se partió del sulfanilamidometiltiazol en substancia; pero después de purificado por recristalización hasta punto de fusión constante del producto a la temperatura de los 237° característicos, limpiamente.

En tales condiciones se presenta en forma de una masa cristalina incolora, constituida por pequeñas agujas prismáticas de caras muy brillantes. Obtenido el derivado sódico correspondiente, disuelto a la concentración del 5 por 100, dió una disolución incolora, a diferencia de la contenida en las ampollas de los tres primeros ensayos, consistente en un líquido coloreado en amarillo pardusco.

Ratones	Peso gramos	Dosis inyectada	Substancia contenida	Gramos por kg. de animal	Resultados
1	16	0,70 c. c.	0,035 grs.	2,18	Vive
2	»	»	»	»	Muere a las 32 h.
3	»	»	»	»	» » » 30 »
4	»	»	»	»	» » » 26 »
5	»	»	»	»	Vive
6	»	»	»	»	Muere a los 2' d.

ENSAYO NUM. 6

Como el número cinco; pero disminuyendo la dosis. Se trataron seis ratones iguales, de 17 grs. de peso, inyectándoles 0,60 c. c. de líquido.

Núm. de ratones	Peso en gramos de cada uno	Dosis inyectada	Substancia contenida	Gramos por Kg. de animal	Resultados
6	17	0,60 c. c.	0,030 grs.	1,76	Viven todos

ENSAYO NUM. 7

Como el número cuatro, pero partiendo del clorhidrato del producto previamente purificado por recristalización hasta punto de fusión constante, del ensayo número cinco. Filtrado el precipitado obtenido, se inyectaron las aguas de precipitación a la misma dosis de 0,90 c. c., sobre seis ratones del mismo tamaño, o sea de 16 grs. de peso.

Resultados. — Todos viven.

Observaciones. — Los ratones mencionados hasta aquí y en el ensayo final siguiente, entre los que sobreviven a los tratamientos correspondientes, continúan viviendo después de quince días de terminado este trabajo, sin síntomas de intoxicación apreciables.

ENSAYO NUM. 8

Se empleó el derivado sódico del 2-sulfanilamidotiazol, correspondiente a un preparado comercial, contenido en ampollas de 10 c. c. para uso endovenoso, a la concentración del 10 por 100. A diferencia de los ensayos números 1, 2 y 3, el líquido a inyectar de las ampollas era incoloro.

Ratones	Peso en gramos	Dosis inyectada	Substancia contenida	Gramos por kg. de animal	Resultados
1	17	0,90 c. c.	0,090 grs.	5,28	Muere a las 28 h.
2	»	»	»	»	Vive
3	»	»	»	»	Muere a las 9 h.
4	»	»	»	»	Muere a las 10 h.
5	»	»	»	»	Muere a las 10 h.
6	»	»	»	»	Muere a los 3 d.
7	20	0,35 c. c.	0,035 grs.	1,75	Vive
8	16	»	»	2,18	Muere a los 2 d.
9	16	»	»	2,18	Muere a las 21 h.
10	22	0,40 c. c.	0,040 grs.	1,81	Vive
11	23	»	»	1,77	Vive
12	23	»	»	1,77	Vive
13	15	0,90 c. c.	0,090 grs.	6,00	Muere a las 9 h.
14	15	»	»	6,00	Muere a las 8 h.
15	15	»	»	6,00	Muere a las 9 h.

ENSAYO NUM. 9

Se partió del sulfanilamidotiazol en substancia, de un preparado comercial en comprimidos para uso clínico. La substancia se presentó en forma de polvo blanco y aspecto cristalino, de punto de fusión 200-202°, correspondiente a un producto muy puro (P. F. del producto puro = 202-203°), que fué tratado con ácido clorhídrico diluído, de modo a obtener una disolución de clorhidrato del sulfanilamidotiazol al 20 por 100.

Separados 30 c. c. de dicha disolución para liberar por precipitación el sulfanilamidotiazol de su clorhidrato e inyectar las aguas de precipitación a ratones en las mismas condiciones descritas en el ensayo núm. 4. se trataron tres ratones de 15 gramos de peso con 0,90 c. c. de líquido.

Resultado. — Los tres ratones viven sin acusar síntomas apreciables de intoxicación, lo mismo que en el ensayo número 7.

Conclusiones

Del examen de los resultados obtenidos, se deducen claramente las conclusiones siguientes:

1.^a La dosis tóxica mortal del sulfanilamidometiltiazol en forma del derivado sódico en ampollas inyectables para uso endovenoso, en el preparado comercial utilizado por nosotros es de 1,75 a 2 gramos por kilo de peso de animal, determinada sobre ratones; la muerte de los animales ocurre dentro de las ocho horas de practicada la inyección. Las aguas resultantes de la purificación del producto por precipitación, muestran una toxicidad muy intensa; puesto que su efecto mortal se produce en el transcurso de la primera hora de inyectadas y, por otra parte, las condiciones de pH de práctica del proceso de precipitación excluyen toda posibilidad de atribución de dicho efecto a producto residual, no precipitado.

2.^a El derivado sódico obtenido a partir del sulfanilamidometiltiazol *purificado por recristalización hasta punto de fusión constante del producto a los 237° característicos* de la pureza del mismo, tiene una toxicidad mucho menor y sus efectos se producen con lentitud manifiesta respecto al precedente; toda vez que la dosis mínima mortal es de 2,18 gramos por kilo de peso de animal y la muerte no sobreviene, en cambio, hasta después de transcurridas las veintiséis horas de practicada la inyección. Además, la dosis de 1,76 gramos por kilo de peso de animal es perfectamente tolerada, al igual que las aguas de precipitación del producto, en condiciones operatorias idénticas.

3.^a La toxicidad del sulfanilamidometiltiazol recristalizado e incoloro del caso precedente, es en un todo análoga a la del sulfanilamidotiazol comercial, precipitado, para uso clínico, objeto de atención seguidamente, por lo menos en las condiciones de nuestros ensayos; prueba evidente de la nula influencia ejercida en tal sentido por la presencia del radical metilo en el anillo tiazólico del sulfanilamidometiltiazol.

4.^a El sulfanilamidotiazol comercial, para uso clínico, es

un producto pulverulento, de color blanco y aspecto cristalino, de punto de fusión 200-202°, correspondiente a un producto muy puro. El líquido contenido en las ampollas de la disolución del derivado sódico para uso endovenoso es incoloro.

La dosis mínima mortal de dicho derivado es también de 2,18 gramos por kilo de peso animal, como en el caso segundo del correspondiente al sulfanilamidometiltiazol purificado por recristalización hasta punto de fusión constante. El efecto mortal, no se produce hasta después de transcurridas veintiuna horas de practicada la inyección, o sea al cabo de un tiempo similar al del mencionado caso. Se requieren dosis muy grandes (de 5 a 6 gramos por kilo de peso de animal), para ocasionar la muerte de los animales dentro de las nueve horas de la administración del producto, o sea con rapidez análoga a la provocada por el derivado sódico del sulfanilamidometiltiazol del comercio, en ampollas para uso endovenoso, del caso primero.

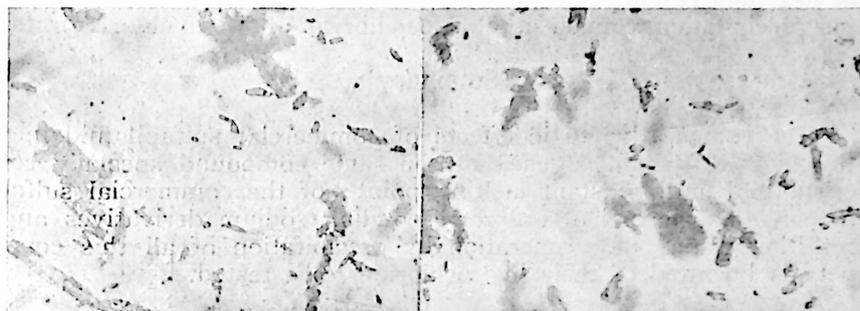
También, como en el mismo caso segundo, las aguas de precipitación del producto son perfectamente toleradas por los animales tratados.

Discusión

Los hechos expuestos demuestran que al efecto tóxico propio del sulfanilamidometiltiazol se suma el de alguna impureza altamente tóxica contenida en el producto pulverulento, resultante de los procesos de aislamiento final de la substancia por precipitación, conforme parecen confirmarlo las analogías entre las toxicidades respectivas y tardanza en producirse el efecto mortal en el caso de los derivados sódicos correspondientes al sulfanilamidometiltiazol recristalizado hasta punto de fusión constante y al sulfanilamidotiazol comercial, resultante de precipitación.

Contrasta igualmente la toxicidad aguda de las aguas de precipitación del sulfanilamidometiltiazol comercial, con la tolerancia por los animales de las correspondientes al mismo producto recristalizado y al sulfanilamidotiazol; prueba evidente de la existencia de un agente tóxico como impureza, capaz de exaltar la toxicidad mucho menor propia de la especie química en sí.

A continuación se incluyen dos microfotografías del sulfanilamidometiltiazol recristalizado, purísimo, de punto de fusión 237° , que hemos empleado, así como la del mismo producto comercial, procedente de precipitación, utilizado igualmente; cuyo punto de fusión fué de $229-230^{\circ}$, con reblandecimiento progresivo a partir de los 216° . El simple examen com-



parativo de ambas, constituye en nuestro concepto el más sólido apoyo en favor de los hechos experimentales expuestos.

Los aspectos químico y fisiológico necesarios para una interpretación de cuanto antecede, habrán de ser objeto de atención especial en futuros trabajos.

Resumen

Se ensayan comparativamente las toxicidades respectivas del sulfanilamidometiltiazol comercial precipitado; la del mismo cuerpo recristalizado hasta punto de fusión constante; la del sulfanilamidotiazol comercial y la de los derivados sódicos correspondien-

tes y aguas resultantes de la recuperación por precipitación de los citados compuestos, una vez liberados de sus clorhidratos.

Résumé

L'on essaye comparativement les toxicités respectives du sulfanilamidométhylthiazol commercial précipité; celle du même corps recristallisé jusqu'au point de fusion constant; celle du sulfanilamidothiazol commercial et celle des dérivés sodiques correspondants et des eaux résiduelles de la récupération des composés mentionnés par précipitation, comme suite de leur libération de ses chlorhydrats.

Summary

The comparative toxic effects of commercial sulfanilamidomethylthiazole for clinical use; of the same compound specially recrystallized until constant melting point; of the commercial sulfanilamidothiazole and of the corresponding sodium derivatives and resulting waters of recuperation by precipitation of all this compounds liberated of their hydrochlorides, are tested.

Zusammenfassung

Man vergleicht die Toxizität des im Handel befindlichen und durch Fällung gewonnenen Sulfanilamid-metil-thiazols, die desselben aber bis zu konstantem Schmelzpunkt verkristallisierten Körpers, die des im Handel befindlichen Sulfamidthiazols, die der entsprechenden Na-Derivate und die der Wasserlösungen, die nach der Wiedergewinnung mittels Fällung der obengenannten vorherig von ihren Chloriden befreiten Körper, zurückbleiben.

Bibliografía

- (1). — J. JIMÉNEZ VARGAS y J. MONCHE ESCUBÓS: «Trabajos del Instituto Nacional de Ciencias Médicas», 3, 385-398 (1943-1944); «Medicina Clínica», 4, 23-26 (1945).
- (2). — W. H. KAMNERER, M. KALKSTEIN y S. SOLOMON: Arch. intern. Med., 67, 855-866 (1941).
- (3). — ROBERT E. SHANK, RICHARD W. MAXWELL y GEORGE S. BOZALIS: «The Journ. of the Am. Med. Assoc.», 117, (26), 2239 (1941).