



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

INVESTIGACION DEL EFECTO TERAPEUTICO DE DOS
DERIVADOS DE LA 6 - METOXI - 8 - AMINOQUINOLINA,
SOBRE Plasmodium berghei yoelii

T E S I S
QUE PARA OBTENER
EL TITULO DE :
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
GUILLERMINA BASTIDA CONTRERAS



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CLAS. Tesis
AÑO 1973
FECHA
PROC. Mit. 70



QUINIO

PRESIDENTE: DIONISIO PELAEZ FERNANDEZ
VOCAL: PAULA COPPOLA VDA. DE RIVAS
SECRETARIO: RAMON GUEVARA ESTRADA
1er. SUPLENTE: DEA CORONADO PERDOMO
2do. SUPLENTE: ALFREDO GARZON SERRA

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

LABORATORIO DE PARASITOLOGIA.

FACULTAD DE QUIMICA U.N.A.M.

SUSTENTANTE: GUILLERMINA BASTIDA CONTRERAS

ASESOR DEL TEMA: PROF. DIONISIO PELAEZ FERNANDEZ

A MIS QUERIDOS PADRES

Con gran cariño y admiración.

A MIS HERMANOS

Con cariño

A LA SRA. ANA CASTAÑEDA DE P.

Por alentarme siempre.

AL PROF. DIONISIO PELAEZ F.

Por su valiosa ayuda y acertada
dirección, para que se llevara
a cabo este trabajo.

A MIS AMIGOS

INTRODUCCION.

Es de gran importancia actualmente el estudio de anti-palúdicos, debido a que el paludismo es una enfermedad que no se ha podido erradicar totalmente, ya que ha resurgido el problema de las formas resistentes, lo que aumenta el número de personas que deben ser tratadas, así como la creación de nuevos y variados tipos de medicamentos.

Se considera que la erradicación total no es posible por ahora, debido a la persistencia de dichas formas resistentes, y al difícil combate de muchas de las especies de anofelinos transmisores. Cabe citar el hecho de que las fuerzas armadas de los Estados Unidos destacadas en Vietnam sólamente en 1968, sufrieron 12,000 casos de paludismo (Goche-nour, 1969) con un costo de 11 millones de dólares.

Las formas resistentes que responden a un determinado tratamiento en una zona, no se comportan de igual manera ante la misma terapéutica en otra zona determinada, lo que indica la necesidad del empleo de productos antimaláricos nuevos y variados.

Este trabajo fué enfocado a la investigación de dos presuntos antipalúdicos, elaborados en el Laboratorio de Farmacia Química de la Facultad de Química de la U.N.A.M. (a los que en el curso de esta exposición nos referiremos como "Pamoato I" y Pamoato II" respectivamente) comparados con otro, el Daraprim, de actividad ya conocida, observando sus

efectos en ratones blancos infectados experimentalmente con Plasmodium berghei yoelii.

Uno de los descubrimientos que más han promovido el estudio de antipalúdicos fué el hallazgo de Plasmodium berghei, realizado por Vincke y Lips (1948), causante de un paludismo en un roedor salvaje (Thamnomys surdaster surdaster) del Congo Belga, y que puede adaptarse en los laboratorios a ratones blancos, lo que ha permitido realizar amplias investigaciones en un hematozoario mucho más cercano a los que en el hombre originan este tipo de enfermedades. Se han descrito - otras especies que han podido ser adaptadas a roedores de laboratorio, como Plasmodium berghei vinckei y Plasmodium berghei yoelii, que se utilizan para tipos semejantes de estudios experimentales.

Después de muchos intentos para encontrar huéspedes susceptibles, han quedado como animales de elección para éstos la rata y el ratón blancos, por ser los más apropiados. Para Plasmodium berghei berghei y Plasmodium berghei yoelii, el ratón tiene sensibilidad mayor, y muere siempre por la infección en pocos días; las ratas siempre que sean jóvenes, se comportan igual. En el caso de Plasmodium berghei vinckei, sólo se infectan los ratones blancos.

El vector natural de Plasmodium berghei berghei es Anopheles durenj, para Plasmodium berghei vinckei es Anopheles durenj (Rodhain, 1952) y para Plasmodium berghei yoelii, -

el Anopheles stephensi (Landau y Chabaud, 1965). Se han hallado, así mismo, algunos otros Anopheles que, experimentalmente, pueden infectarse con estos Plasmodium. (Pérez-Reyes, 1953).

Plasmodium berghei yoelii infecta naturalmente a un roedor salvaje de la especie Thamnomys rutilans (según Peters, 1963). Fué encontrado en Maboké, República Centroafricana, por Landau y Killick-Kendrick en 1966 (Landau, 1965; Landau y Chabaud, 1965).

Las diferentes fases de Plasmodium berghei berghei y Plasmodium berghei yoelji en sangre periférica no parecen ser morfológicamente diferenciables, según Landau y Killick-Kendrick (1966) y la separación para estas dos especies está basada principalmente en la esporogonia y el primer esquizonte exoeritrocítico (criptozoíto).

Por lo que hace a Plasmodium b. berghei, las inoculaciones intraperitoneales en los roedores pueden ser tan satisfactorias como las intravenosas (Thurston, 1950), pues se demostró que los parásitos penetraban de la pared peritoneal a la circulación sanguínea un minuto después de la inoculación (Black, 1952).

En las infecciones por este parásito es notable la disminución de eritrocitos y la producción de neutropenia (González-Estopier, 1966). Baldi (1950) estudió las modificaciones

de la serie roja, viendo que coinciden con el incremento de la parasitemia y una notable circulación de macrocitos policromatofílicos en los que de preferencia se aloja el parásito. Corradetti y Veronili (1951) observaron que las alteraciones hemáticas citadas regresan a la normalidad en los animales que sobreviven. Aparicio y Ramos Moritán - (1952) observaron que los eritrocitos policromatofílicos comienzan a aparecer en la sangre circulante en las pocas - horas de la inoculación y que son prácticamente las únicas formas existentes antes de la muerte de los animales.

Utilizando Plasmodium berghei para el estudio de nuevos antipalúdicos, Schneider y Montezin (1949) observaron el desarrollo regular de la parasitemia en un tiempo fijo, inferior a 24 horas para el ratón, y la obtención de una infección progresivamente creciente y constantemente mortal. Peters (1967) describió sistemas in vivo utilizando este mismo Plasmodium en ratones blancos como modelo de laboratorio para los ensayos primarios de drogas, y Bruce-Chwatt - (1967) estableció que cualquier evaluación decisiva de productos para la prevención y tratamiento del paludismo humano puede ser hecha sólomente en el hombre.

Este mismo tipo de trabajos y muchos más sobre ensayos terapéuticos se ha llevado a efecto también con P. b. vinckei y con P. b. yoelii; los resultados, que aparecen dispersos en una copiosa bibliografía, coinciden en líneas generales con - los encontrados al trabajar con P. berghei berghei.

En los últimos años se ha dado especial importancia el estudio de antipalúdicos que tengan efecto sobre las formas exoeritrocíticas de los plasmodios, puesto que la mayoría de los productos actúan sólo de manera supresiva, de aquí los frecuentes fracasos de las drogas empleadas (González-Estopier, 1966).

Los medicamentos que no actúan sobre las formas exoeritrocíticas dan lugar a frecuentes recaídas, aunque el parásito se haya eliminado de las formas sanguíneas, ya que permanecen en las células de los tejidos fijos.

Entre los trabajos principales hasta ahora publicados acerca de la acción de los medicamentos diferentes sobre Plasmodium berghei, están los de Schneider, Decourt y Montezin (1949), Hill (1950), Mudrow-Reichenow (1951), Rollo (1951 y 1952, 1952a), Lapierre (1954), etc. Todos ellos suelen referirse ampliamente a las asociaciones de Proguanil con Quinina y Mepacrina.

La historia de los antipalúdicos sintéticos comienza con el descubrimiento de la Plasmoquina, sintetizada en Alemania en 1924, la Atebrina en 1930 y después en Rusia y Francia, países ambos donde se había introducido una Plasmoquina de cadena lateral más corta, el Plasmocid ruso, Rhodoquina francesa. En Inglaterra, como una modificación a la Paludrina, se produjo el Daraprim o Pirimetamina, la primera pirimidina antipalúdica fabricada por Burroughs Wellcome. (Giral, Peláez, et al., 1972.)

Desde hace tiempo han surgido dos nuevas ideas para reforzar la acción contra los plasmodios, combinando en -diversas formas los núcleos de actividad ya conocida, especialmente la 6-metoxiquinolina, con otras agrupaciones moleculares a las que se les ha atribuído cierta actividad: arsenicales pentavalentes y sulfas, produciéndose el plasmocid y la amiquina. (Giral, Peláez, et al., 1972).

La primera idea se materializó con la sal del estovar solato de plasmocid (Giral, 1945); la segunda idea, la combinación de la 6-metoxiquinolina con sulfanilamida, - permitió preparar sulfametoxiquinolina, que fué inactiva contra Plasmodium gallinaceum (Giral y Senosiain, 1945; Soberón y Peláez, 1946).

La resistencia a la Cloroquina se conoce desde 1965, y posiblemente el responsable de esta acción sea el cloro aromático que existe en muchos antipalúdicos sintéticos, el que provoca resistencia en mayor o menor grado (Giral, Peláez, et al., 1972), independientemente de que el cloro se halle unido a un benceno (Paludrina, Daraprim), a una quinolina (Cloroquina y Camoquina) o a una acridina (Atebrina). Parece ser que el primer antipalúdico sintético donde se observaron formas resistentes fué la Paludrina.

Actualmente, en el Laboratorio de Farmacia Química de la Facultad de Química de la U.N.A.M., se están desarrollando nuevas formas de modificar el núcleo de la 6-metoxiquinolina, principalmente, y también, en segundo término, de

metoxiacridinas, prescindiendo de cloros aromáticos y combinando los núcleos del modo siguiente:

- a) En forma de colorantes azoicos
- b) En forma de Sulfas
- c) Con cadenas laterales nuevas, provenientes del desecho de la fabricación de hormonas esteroides.

De los primeros se han ensayado los azoicos con atoxil, y estovarsol, sobre Plasmodium berghei, encontrando una actividad muy débil (González-Estopier, 1966).

Recientemente se han localizado formas resistentes de Plasmodium falciparum en Colombia y Panamá, y Peters (1970) recomendó como la mejor forma de ataque (probablemente tanto para Plasmodium falciparum de Sudamérica como del Sudeste Asiático) la combinación de sulfas y sulfonas.

Con la introducción de nuevas cadenas laterales a núcleos antipalúdicos de quinolina o de acridina, se logra una gran variedad en cuanto a actividad, toxicidad y resistencia. En Rusia (Braude y Stabroskaya, 1956) se ha producido una nueva 8-aminoquinolina, el Quinocid. Por otra parte, Alving, et al., (1962) dijeron que las 6-metoxi-8-aminoquinolinas son los únicos compuestos antipalúdicos con suficiente actividad frente a las últimas fases exoeritrocíticas (en tejidos fijos) del paludismo originado por Plasmodium vivax; pero, como semejantes sustancias pueden tolerarse mal, llegando a ser tóxicas, lo más atractivo en la

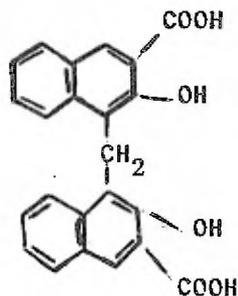
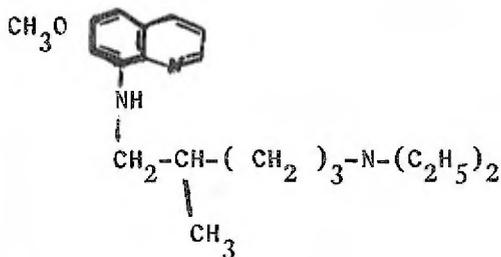
producción de nuevos antipalúdicos pueden ser las modificaciones en esta estructura básica de 6-metoxi-8-aminoquinolina, que es de las más refractarias a producir formas resistentes (Hawking, 1970) con nuevas cadenas laterales y sin cloros aromáticos.

Los productos que hemos ensayado ante Plasmodium berghei yoelii en nuestro trabajo tienen características muy diferentes, las cuales resumimos brevemente a continuación.

Tomamos como referencia para apreciar la posible acción terapéutica de estos dos productos a la Plasmoquina, que tienen una configuración química semejante, y combinados con el ácido pamoico, sus fórmulas son las siguientes:

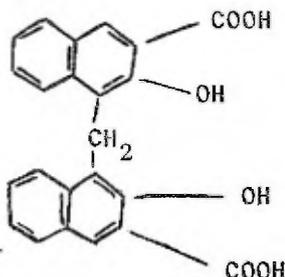
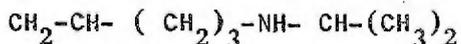
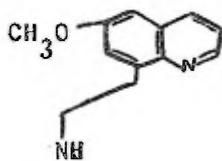
"Pamoato I"

Fórmula: Pamoato de 8-(5-dietilamino-2-metilpentil) 6-metoxiquinolina.



" Pamoato II "

Fórmula: Pamoato de 8-(5-isipropilamino-2-metilpentil)
6-metoxiquinolina



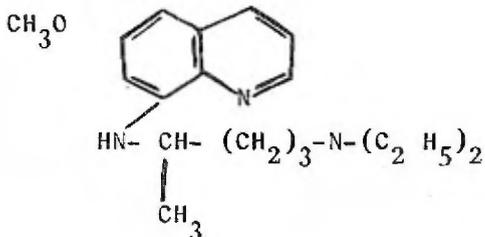
Los dos productos mencionados, son derivados de la 6-metoxi-8-aminoquinolina, que fueron sintetizadas, por la Q. Yeta Shaderman de Govezensky, en el Laboratorio de Farmacia Química de Estudios Superiores de la Facultad de Química de la U.N.A.M., bajo la dirección del Dr. Francisco Giral y enviados para su estudio farmacológico al Laboratorio de Parasitología de la misma Facultad, dirigido por el Prof. - Dionisio Peláez Fernández.

Plasmoquina

Sinonimia: Plasmoquina, Pamaquina.

Fórmula: 8- (4-dietilamino-1-metil-butilamino) 6-metoxiquinolina.

Sintetizada por Schuleman, Schönhöfer y Wingler en 1924.



Tiene cierta acción sobre las formas asexuadas, pero especialmente gameticida, sobre todo frente a P. falciparum. Los gametos no intervienen en el proceso patológico, pero son vectores de infección en el mosquito. De aquí la importancia de la Plasmoquina como profiláctico, más que terapéutico. La Plasmoquina destruye todas las formas de los agentes de terciana y cuartanas.

Su mejor efecto se ha encontrado cuando se asocia a la Quinina, con lo cual se consigue bajar el porcentaje de recaídas. Al asociarla con otros medicamentos sintéticos, aumenta su toxicidad y sólo se consiguen efectos útiles cuando se asocia a la Atebrina, a condición de reducir su dosis a 15 mg. al día.

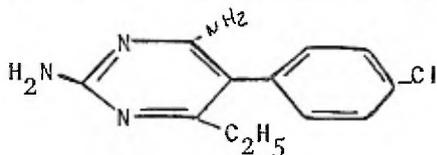
Sus dosis curativas son muy cercanas a la toxicas. (Sandoval, 1957).

Daraprim

Sinonimia: Daraprim, Malocid, pirimetamina.

Fórmula: 2,4-diamino-5-(4-clorofenil)-6-etilpirimidina.

Sintetizada por Hitchings en 1945.



El hecho de emplearse como antipalúdico partió de su gran semejanza con las pirimidinas y la Paludrina (Falco, et al., 1949)

El Daraprim, impide la maduración de los eritrocitos, bloqueando el proceso hematopoyético (Meyer, et al., 1949). El efecto antipalúdico sobre Plasmodium relictum, según De la Jara (1953), se manifiesta claramente sobre los esquizontes sanguíneos.

También ejerce una acción muy marcada sobre los gametocitos y les impide llegar a su madurez en el mosquito (Sandoval, 1957).

La absorción del Daraprim, es lenta pero completa, localizándose en grado moderado en los pulmones, hígado, riñones y bazo. Generalmente no se acumula en el plasma. Las concentraciones máximas después de la administración oral se alcanzan alrededor de las dos horas. Su importancia radica en su acción profiláctica. Logra la profilaxis clínica en todas las infecciones palúdicas y constituye un profiláctico causal en las de falciparum (Sandoval, 1957)

MATERIAL Y METODOS

La cepa de Plasmodium berghei yoelii, fue enviada por el Dr. P. C. C. Garnham en 1969, del London School of Hygiene and Tropical Medicine de la Universidad de Londres, - al Departamento de Parasitología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, donde se mantiene por pases de sangre entre ratones, produciendo una parasitemia y virulencia elevada. Esta cepa nos fue proporcionada por el Prof. F. Zerón, de dicho centro, a quien agradecemos su colaboración.

Los animales experimentales fueron ratones blancos de ambos sexos, con un peso promedio de 25 - 30 g, los cuales proceden de una cepa homocigótica que se mantiene desde hace años en el Instituto Nacional de Higiene, y nos facilitó el Prof. Jordi Juliá, de la citada institución, a quien hacemos patente su ayuda.

Antes de comenzar la experimentación de los productos, administramos inóculos diferentes de Plasmodium a 2 lotes de 4 ratones cada uno, con el objeto de precisar la cantidad de parásitos que deberíamos inocular posteriormente para que se hiciera patente la parasitemia en un tiempo de dos días. Procedimos a hacer los siguientes cálculos.

total de eritrocitos / mmc de sangre. (5 310 000)

Se contarón 500 eritrocitos, y se determinarón la cantidad de eritrocitos parasitados. (167).

500 (e) ----- 179 (e.p.)

5 310 000 (t.e.) ----- X (e.p.)

X = 1 773 540 eritrocitos parásitados / mmc

1773 540 (e.p.) ----- 1 mmc de sangre

1 000 000 (e.p.) ----- X

X = 0.563 mmc de sangre

Se hizo una dilución de la sangre parasitada, para la inoculación a los ratones, calculandose de la siguiente forma:

1 000 000 (e.p.) ----- 500 ml (sol. salina)

1 000 (e.p.) ----- X

X = 0.5 ml

e. eritrocitos

t.e. total de eritrocitos

e.p. eritrocitos parásitados.

Una vez conocida esta cantidad de parásitos, procedimos a inócular los lotes necesarios que en total fueron 16 de 5 ratones cada uno (por vía intraperitoneal en todos los casos) con 1 000 eritrocitos parásitados por mmc para cada ratón. Durante toda la experimentación 12 ratones se mantuvieron sin tratamiento, como testigos de la parasitemia, los cua-

les se distribuyeron de la siguiente forma

Lotes	Testigos
9	6
2	4
2	2
3	-

Para efectuar la inoculación partimos de sangre del ratón donador en cada caso con elevada parasitemia, y se hizo la cuenta de eritrocitos parásitados en una extensión de sangre teñida con el colorante de Giemsa, con el objeto de calcular después las diluciones necesarias en solución salina fisiológica al 0.85 % para obtener exactamente 1000 eritrocitos parásitados por mmc para cada ratón.

A partir del día de la inoculación se pesaron los ratones diariamente, y se les tomó sangre del extremo de la cola para practicar una biometría hemática completa, tanto a los ratones tratados como a los testigos, teñiendo una extensión con el colorante de Giemsa, para comprobar la presencia de parásitos sanguíneos. Se siguió el curso de la parasitemia en todos los animales, tratados o no.

El número de leucocitos y de eritrocitos se obtuvo, también a diario por medio del cuanteo microscópico empleando cámara de Neubauer; para los leucocitos se utilizó la pipeta de Thoma, correspondiente diluyendo 1: 20 volumen -/ volumen de sangre con solución de Türk (Helman, et al, - 1972).

Solución de Türch:

Acido acético 3 a 5 ml.

Agua destilada c.b.p. 100 ml.

Y el resultado se anotó como leucocitos / mmc. de sangre. En la cuenta de eritrocitos se utilizó la pipeta de Thoma adecuada y se hizo una dilución 1:200 volumen / volumen de sangre en solución de Hayem (Helman, et al. 1972), expresando su cantidad por mmc.

Solución de Hayem:

NaCl 1 g.

Na₂SO₄.10 H₂O 5 g.

H₉Cl₂. 0.5 g.

H₂O destilada 200 ml.

La fórmula leucocitaria y la evaluación de la parasitemia, se estimaron en extensiones de sangre fijadas inmediatamente con alcohol metílico absoluto y teñidas con el colorante de Giemsa (2 gotas por ml de agua de la llave con un pH ligeramente alcalino, durante 60 minutos), que se observaron después al microscopio con objetivo de inmersión y ocular - 10 x.

Los productos empleados como agentes terapéuticos se administraron siempre por vía oral, mediante una jeringa de tuberculina a la cual le adaptamos una aguja del No. 20, ligeramente curvada y con el bisel romo, introduciéndola por la

boca del ratón hasta el estómago, para tener seguridad de que la dosis administrada era retenida.

La administración de los medicamentos se hizo en dosis única diaria durante 5 días consecutivos, a partir de 48 - horas de iniciada la inoculación, cuando la patencia de infección se había comprobado mediante el correspondiente examen parasitoscópico.

Del Daraprim, se utilizó la sal pura del lote 31248 de los Laboratorios Burroughs Wellcome, que está en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Química de la U.N.A.M. y nos fué proporcionada por el Prof. Dionisio Peláez. La sal es disuelta en ácido láctico al 85 % a una temperatura de 37°C; después mediante diluciones apropiadas en agua destilada, se obtuvieron las concentraciones necesarias para poder administrar las diferentes dosis, calculando que la dosis mayor fuera como máximo 1 ml. y la dosis menor estuviera comprendida hasta 0.4 de ml. Se tomó como dosis mínima - activa la de 0.25 mg / Kg de peso de ratón, siguiendo los - resultados de Schneider, Montezin y Dupoux (1954).

Los Pamositos nos fueron suministrados por la Q. Yeta Shaderman de Govezensky, a la que reiteramos nuestro agradecimiento. Dichos productos fueron sales puras, que son insolubles tanto en solventes orgánicos como inorgánicos, por lo cual se administraron en una suspensión en agua destilada. - Para su dosificación, tomamos como referencia el principio de

base activa de la Plasmoquina que es de 3.25 mg/Kg de peso de ratón (Schneider, Decourt y Montezin, 1949), tomando - en cuenta el peso molécul ar de cada una de los pamoatos, - así como su base activa. Para tratar de sacar la dosis equi- valente hicimos los calculos siguientes:

Determinación de la base activa del Pamoato I

$C_{43}H_{47}O_7N_3$ - - - - - 717 g (Peso molecular)

$C_{20}H_{31}O N_3$ - - - - - 329 g (Peso molecular de la base activa)

717 g - - - - - 329

1 g - - - - - X

Base activa de Pamoato I = 0.45 g = 450 mg / Kg

Dosis mínima activa de la Plasmoquina 3.25 mg / Kg

3.25 mg - - - - - 1000 g

450 mg - - - - - 1000 g

Dosis mínima en base activa del Pamoato I 138 mg / Kg

Determinación de la base activa del Pamoato II

$C_{42}H_{45}O_7N_3$ - - - - - 703 g (Peso molecular del Pamoato II)

$C_{19}H_{29}O N_3$ - - - - - 315 g (Peso molecular de la base activa)

703 g - - - - - 315 g

1 g - - - - - X

Base activa del Pamoato II = 0.44 g = 440 mg / Kg

3.25 mg - - - - - 1000 g

440 mg - - - - - 1000 g

Dosis minima en base activa del Pamoato II 135 mg / Kg

Por los datos anteriores hicimos las siguientes dosificación:

Dosificación de Daraprim con dosis minima activa.

Lote	Dosis Diaria mg / Kg	Dosis Total (5 días) mg / Kg
III	0,25	1,25
IV	0,37	1,85
V	0,50	2,50
VI	0,75	3,75
VII	1,00	5,0
VIII (control)	1,25	6,25

Dosificación del Pamoato I en Base Activa.

Lote	Dosis Diaria mg / Kg	Dosis Total (5 días) mg / Kg
IX	138	690
X	207	1 035
XI	276	1 380
XII	690	3 450
XIII (control)	690	3 450

Dosificación del Pamoato II, en Base Activa.

Lote	Dosis Diaria mg / Kg	Dosis Total (5 días) mg / Kg
XIV	135	675
XV	202	1 010
XVI	270	1 350
XVII	675	3 375
XVIII	675	3 375

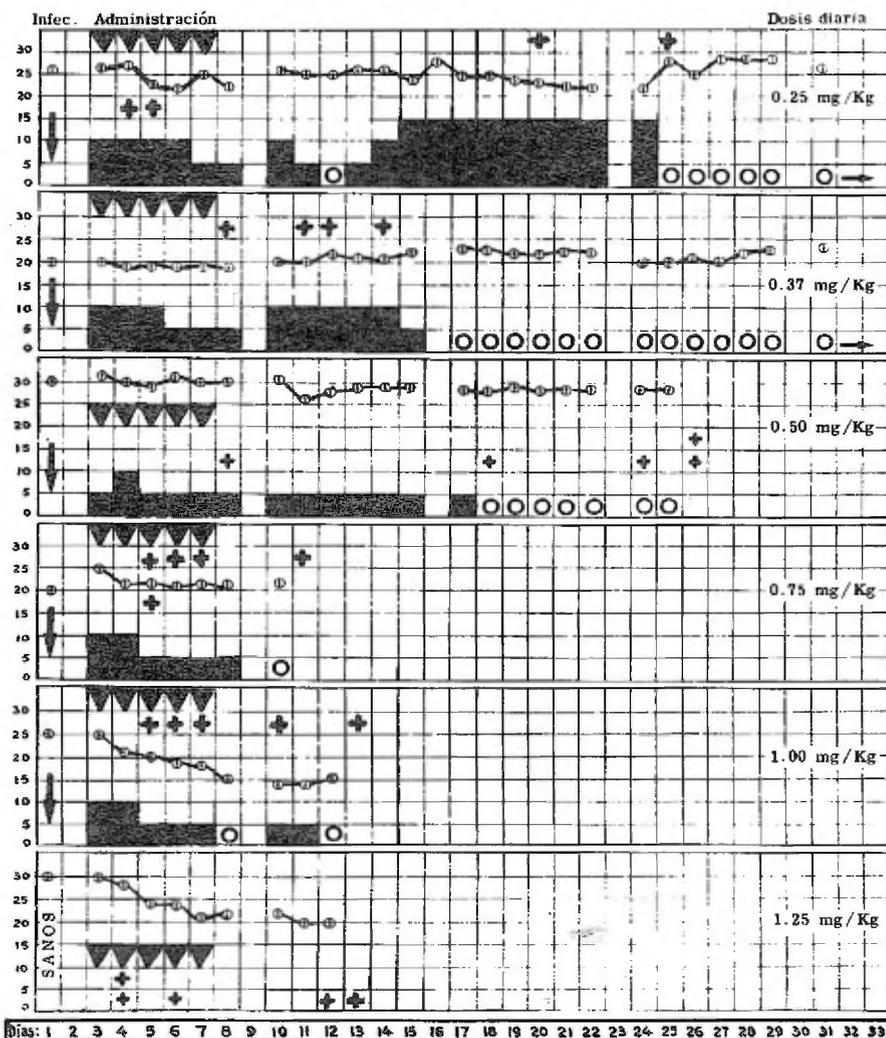
Todos los resultados se tabularon y graficaron en forma de línea continua para eritrocitos, y en forma de línea cortada para leucocitos, en forma de barras para seguir la parasitemia.

Se hicieron las gráficas individuales para cada ratón, en papel milimétrico, posteriormente se graficaron las curvas promedio correspondientes a cada uno de los lotes de los productos ensayados, para tener curvas representativas.

DARAPRIM

2

RESULTADOS OBTENIDOS (EN PROMEDIOS) AL ADMINISTRAR "DARAPRIM" DURANTE CINCO DIAS CONSECUTIVOS, EN LAS DOSIS DIARIAS QUE SE INDICAN, A CINCO LOTES DE RATONES BLANCOS (5 ANIMALES EN CADA UNO) INFECTADOS CON *Plasmodium berghei yoelii*, Y A OTRO LOTE DE 5 RATONES SANOS



Sin parásitos

○

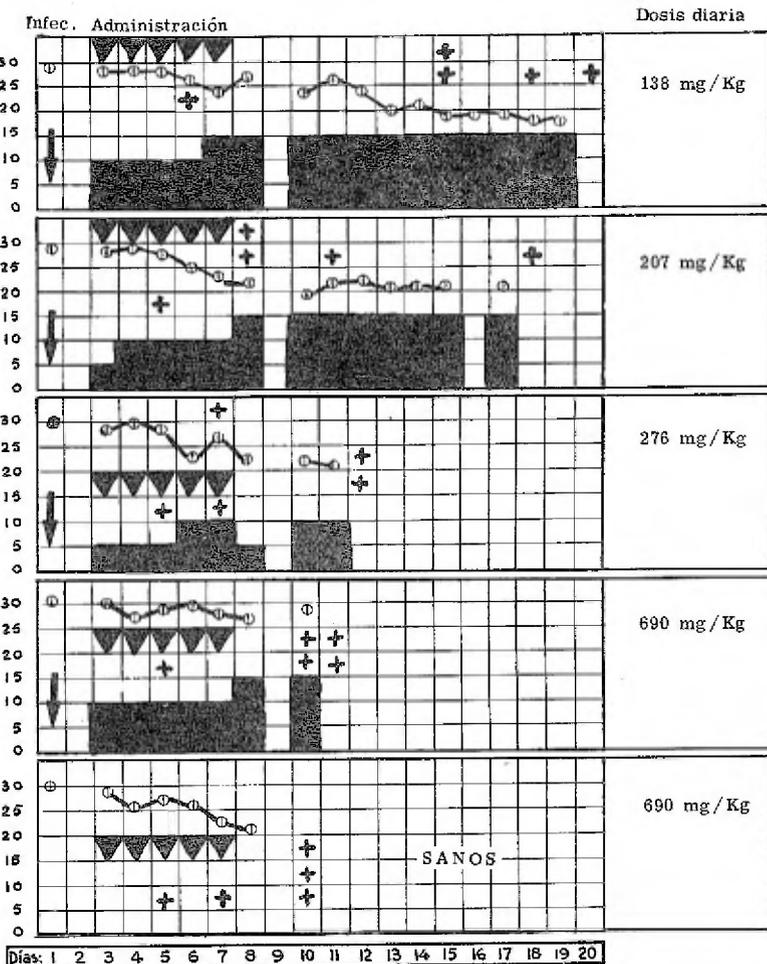
Peso en g

—●— Muerte de un ratón

PAMOATO I

3

RESULTADOS OBTENIDOS (EN PROMEDIOS) AL ADMINISTRAR "PAMOATO I" DURANTE CINCO DIAS CONSECUTIVOS , EN LAS DOSIS DIARIAS QUE SE INDICAN, A CINCO LOTES DE RATONES BLANCOS (5 ANIMALES EN CADA UNO) INFECTADOS CON *Plasmodium berghei yoelii*, Y A OTRO LOTE DE 5 RATONES SANOS



1 - 10

11 - 100

101 - 1000

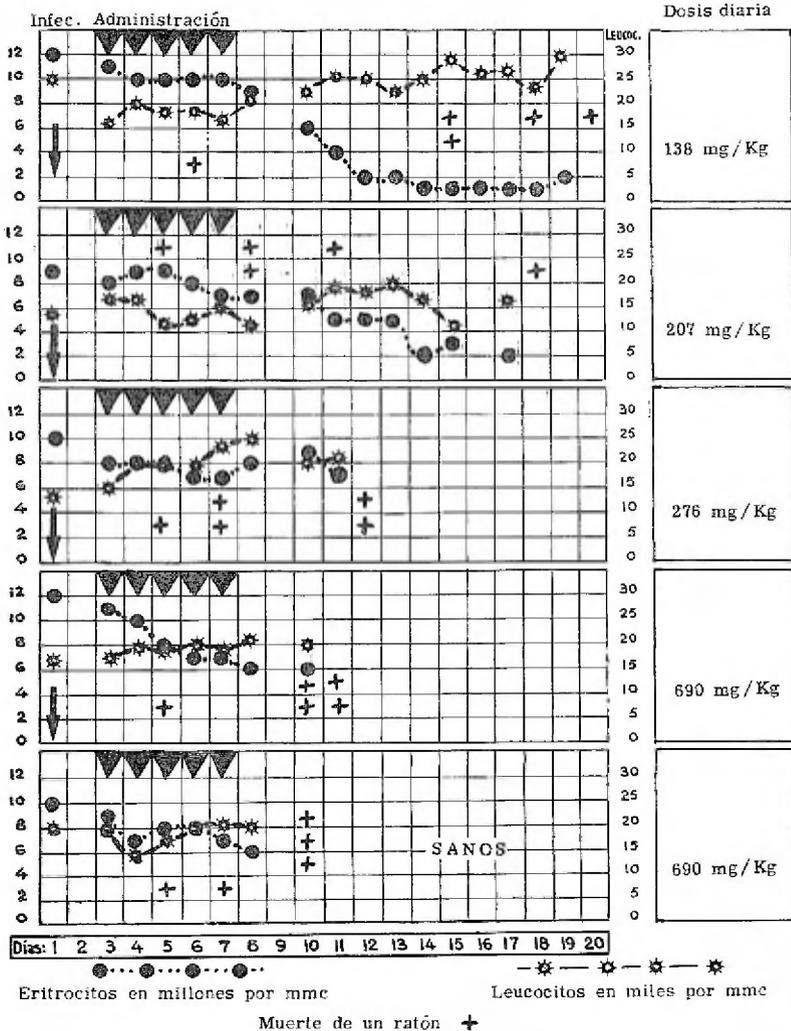
Número de eritrocitos parasitados por mil

Peso en gramos ○—○—○ Muerte de un ratón †

PAMOATO I

3A

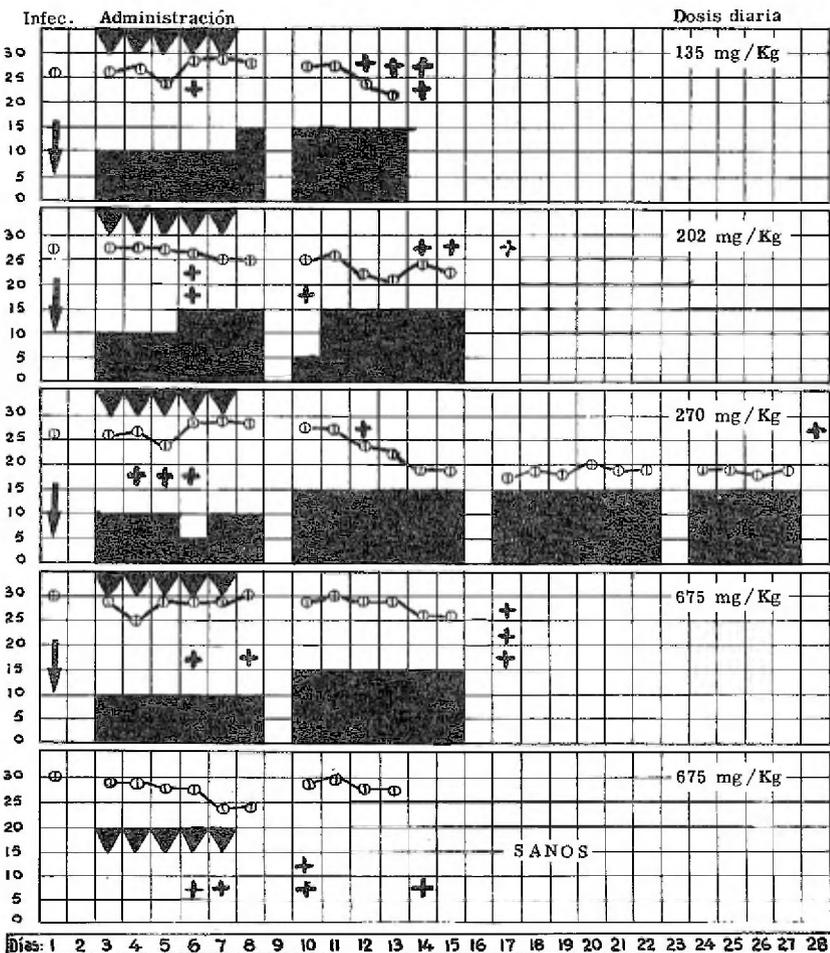
VARIACION (EN PROMEDIOS) DEL NUMERO DE ERITROCITOS POR mmc Y DE LEUCOCITOS POR mmc , EN LOS MISMOS LOTES DE RATONES DE LA GRAFICA 3



PAMOATO II

4

RESULTADOS OBTENIDOS (EN PROMEDIOS) AL ADMINISTRAR "PAMOATO II" DURANTE CINCO DIAS CONSECUTIVOS . EN LAS DOSIS DIARIAS QUE SE INDICAN, A CINCO LOTES DE RATONES BLANCOS (5 ANIMALES EN CADA UNO) INFECTADOS CON *Plasmodium berghei yoelii*, Y A OTRO LOTE DE 5 RATONES SANOS



DISCUSION DE LOS RESULTADOS

EVOLUCION DE LA PARASITEMIA

(Gráficas 1A y 1B)

Al inocular los ratones con 1 000 000 y con 1 000 eritrocitos parasitados, los resultados obtenidos son muy semejantes, como lo indican las curvas trazadas en las - gráficas correspondientes.

PARASITOS

Aparecen en sangre, en ambos casos, al siguiente día de la inoculación, si bien, con mayor inóculo se elevan - los parásitos con más rapidez, por lo que para la experimen- tación de los productos que íbamos a probar como presuntos antipalúdicos, preferimos inocular todos los lotes restantes de ratones con 1 000 eritrocitos parasitados, pues así dispon- dríamos de un tiempo más largo de observación de los animales infectados. Ambas curvas ascienden al principio hasta alcanzar su máximo en los días 7º (gráfica 1A) y 9º (gráfica 1B); después se abaten los parásitos se mantienen con cifras meno- res, aunque elevadas, durante ocho días, muriendo la mayor - parte de los ratones antes de producirse una recrudescencia (días 16º y 17º) que origina la muerte del resto de los - animales, siempre con muchos parásitos en sangre, aunque - con duración un tanto prolongada en los inoculados con 1 000 eritrocitos parasitados.

CUENTA DE ERITROCITOS

Al elevarse la parasitemia, el número de eritrocitos decrece notablemente, produciéndose en los ratones una notable anemia, pues la cifra de los eritrocitos decae hasta tres, dos e incluso un millón por mmc. Esto puede ser debido también a que los ratones fueron sangrados diariamente, si bien Gowen y Calhoun (1943) y Russell et al. (1951) dicen que las variaciones hemáticas dependen de la edad, - alimentación, temperatura y principalmente el tipo de cepa de los roedores.

Plasmodium berghei yoelii infecta preferentemente - eritrocitos basófilos (Krestschmar, 1965), siendo bien notorio que las células invadidas son rápidamente destruidas y esta pérdida no puede ser compensada con nuevos eritrocitos (Tovar-González, 1971).

LEUCOCITOS

La infección ocasiona una leucocitosis, caracterizada por linfocitosis, monocitosis y una elevada neutropenia, Como puede observarse en los animales utilizados, al principio se computó en ellos una cifra de leucocitos muy alta, que no concuerda con la que suele tomarse como normal para esta cepa de ratones, y para la cual no tenemos explicación posible. Los leucocitos pueden ascender hasta 50 000 en -- los animales infectados experimentalmente (Tovar - González,

1971); pero en nuestros lotes, las cifras más elevadas que observamos variaron entre 27 000 y 31 000 leucocitos por milímetro cúbico, correspondiendo a un ascenso menor a los inoculados con 1 000 eritrocitos parasitados.

PESO

En todos los animales en estudio, el peso no vario en forma notable, debido probablemente a que los ratones eran jóvenes y se encontraban en período de crecimiento. De todos modos, en los animales inoculados con 1 000 000 de eritrocitos parasitados, el promedio de peso descendió progresivamente desde 21g a 16g, y en los que recibieron un inóculo de 1 000 eritrocitos parasitados, se observó - primero un ligero aumento desde los 25g iniciales, para seguir después la misma suerte que los del lote anterior.

DARAPRIM

(Gráficas 2 y 2A)

Es un medicamento de actividad conocida para Plasmodium berghei berghei y solamente tratamos de verificar dicho dato para Plasmodium berghei yoelii.

Al administrar la dosis mínima activa de Daraprim (0,25 mg/Kg), durante los primeros cuatro días de tratamiento el número de parásitos se mantuvo constante, muriendo dos de los ratones por accidente al administrar

el producto; en el quinto día de tratamiento el número de parásitos decreció, presentándose posteriormente un ligero ascenso para desaparecer totalmente el día 12º. Se originó una recrudescencia al décimo tercer día, que duró hasta el 24º y en este período murieron otros dos ratones, quedando sólo uno que se curó sin presentar reaciadas posteriores, pues, aunque en la gráfica correspondiente se anota los datos hasta el trigesimo segundo día, el ratón se siguió controlando mediante estudio de extensiones de su sangre, sin observar posteriormente parásitos en ella.

El número de eritrocitos se mantuvo sensiblemente igual todo el tiempo que duro el tratamiento, originándose posteriormente un descenso, con franca anemia durante el período de la recrudescencia. El ratón sobreviviente - regresó a las cifras normales de eritrocitos una vez desparasitado.

El número de leucocitos, aumentó al ascender el número de parásitos, alcanzando una cifra de 25 900 por milímetro cúbico el día 19º; en el ratón que se curó decrecieron hasta 13 700.

Con la dosis de 0,37 mg/Kg y 0,50 mg/Kg se produjo una notable disminución de los parásitos a los 2 ó 3 días de estar administrando el Daraprim. Después de finalizar el tratamiento aumentaron los plasmodios en sangre y para el día 14º habian muerto cuatro ratones con la dosis dia-

ria de 0,37 mg/Kg y sólo uno con la dosis de 0,50 mg/Kg. Del primero de estos lotes solamente sobrevivió un ratón desparasitado; sin embargo, en el segundo lote los cuatro permanecieron sin parásitos, murieron entre los días 18 a 26 después de haber sido infectados.

Comprobamos que, según observaron Corradetti y Verolini (1951), las alteraciones hemáticas regresan a la normalidad en los animales que sobreviven a la infección. Si bien el producto fué efectivo como parasiticida, mostró una toxicidad suficiente para no permitir la supervivencia de los animales desparasitados.

Al administrar dosis mayores (0,70 mg/Kg y 1,0 mg/Kg), con la primera el número de parásitos decreció - hacia el quinto día desapareciendo los parásitos el décimo día; en el segundo caso los parásitos desaparecieron el - décimosegundo día. En el primer caso el número de leucocitos aumentó notablemente, alcanzando una cifra de 29 000 - por milímetro cúbico, pero en el segundo, el número de leucocitos descendió desde 19 000 hasta 10 000 por milímetro - cúbico. En ambos casos los ratones murieron durante el tratamiento o inmediatamente después de concluído éste, lo que parece indicar que el medicamento a estas dosis, es tóxico. Por ello, procedimos a tratar un lote de animales sanos con una dosis de 1,25 mg/Kg, con lo cual comprobamos que el producto en esta proporción es francamente tóxico, produciéndose una notable anemia, con un descenso de eritrocitos hasta tres millones por mmc. El número de leucocitos se mantuvo siempre

en un nivel alto, debido a que se elevaron desde 18 300 hasta 27 000 por mmc.

" PAMOATO I "

(Gráficas 3 y 3 A)

Con la administración del Pamoato I en dosis de 138 mg/Kg no se notó cambio alguno en la curva de la parasitemia; los ratones murieron entre el décimo quinto y el vigésimo días (uno, por accidente durante la administración - del producto) y se observó en ellos una anemia pronunciada, hasta un millón de eritrocitos por mmc. Los leucocitos, - durante el tratamiento, decrecen hasta una cifra de 16 000 por mmc, para elevarse posteriormente alcanzando una cifra de 30 000 por mmc.

Con la dosis de 207 mg/Kg los resultados fueron semejantes.

Con la dosis de 276 mg/Kg, el número de parásitos se mantuvo constante hasta el tercer día de la administración, para elevarse al cuarto día, en el que murieron tres ratones, al parecer debido a la toxicidad del producto. Se presentó después una recrudescencia al día 12^o habian muerto los restantes. El peso de los animales fué descendiendo - continuamente también durante la experimentación, lo que - apoya nuestra opinión respecto a la toxicidad del producto

en esta dosis. El número de leucocitos aumentó considerablemente durante el tratamiento, llegando a una cifra máxima de 25 300 por mmc.

Se administraron 690 mg/kg a dos lotes de cinco ratones cada uno: infectados y sanos respectivamente, y todos los animales murieron en diez u once días, decreciendo sus eritrocitos y el peso, sin conseguir eliminar los parásitos de la sangre de los inoculados. En ambos casos se produjo un aumento en los leucocitos.

El Pamoato I, en todas las dosis administradas fué tóxico, produciendo efectos secundarios, tales como erizamiento del pelo, ceguera, encurvamiento de la columna vertebral y muerte.

" PAMOATO II "

(Gráficas 4 y 4 A)

Durante la administración del Pamoato II en dosis de 135 y 202 mg/Kg, se mantuvo la parasitemia en cifras bastante elevadas, pero sin aumento notable progresivo; no obstante, una vez concluido el tratamiento, se elevaron fuertemente, y murieron todos los animales con una anemia muy severa: 1 000 000 de eritrocitos por mmc. En ambos casos se produjo aumento de leucocitos, en el primer caso hasta una cifra máxima de 22 500 por mmc y en el segundo 28 400 por mmc.

Al elevar las dosis a 270 y 675 mg/Kg, se apreció desde el principio una disminución en la tasa de parásitos: pero, durante la administración del producto, murieron varios ratones y, al terminar el tratamiento se produjo una recrudescencia que determinó la muerte de los restantes. Cabe señalar, sin embargo, que en el primero de estos lotes, un ratón sobrevivió hasta el día 28^a. En ambos casos el número de leucocitos se mantuvo siempre - elevado. La anemia y pérdida de peso fueron notables y - ambos parámetros acusarán la franca toxicidad del producto a estas dosis, como pudimos comprobar al administrar a un lote de animales sanos la misma cantidad 675 mg/Kg.

CONCLUSIONES

Plasmodium berghei yoelii originó siempre una franca anemia en los ratones, causando la muerte de todos los animales, al destruir un gran número de eritrocitos, provocando un notable descenso de la hemoglobina. Esto mismo se observó, así mismo, como resultado de la acción, por separado o conjunta, del parásito y los productos ensayados como presuntos antipalúdicos.

En todos los animales el peso no descendió mucho, debido a que los ratones se encontraban en crecimiento.

La leucocitosis que presentaron los ratones infectados a lo largo de nuestro experimento como respuesta del huésped frente al parásito, se caracterizó por linfocitosis, monocitosis y neutropenia, así como también abundancia de células reticuloendoteliales.

El Daraprim a dosis de 0,25 mg/Kg mostró escasa actividad antiparasitaria.

En las dosis de 0,37 y 0,50 mg/Kg, el producto fué más efectivo, aunque bastante tóxico; con dosis más altas, la toxicidad del medicamento aumenta.

En el caso del Pamoato I, con la dosis de 276 mg/Kg, se presentó una ligera acción, al mantenerse constante el número de parásitos durante los primeros días; posteriormente

te, sin embargo, los parásitos alcanzaron cifras muy altas, apreciándose toxicidad.

Con dosis de 270 y 675 mg/Kg del Pamoato II, se mantuvo el número de parásitos durante el tratamiento, produciéndose posteriormente una recrudescencia; por lo que, al parecer, en un principio hubo cierta acción esquizonticida.

Ambos productos: Pamoato I y Pamoato II, en todas las dosis ensayadas fueron tóxicos y carecieron prácticamente de efectividad.

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

ALDAY TAPIA C.

1960 Estudio del efecto de algunos antipalúdicos sobre ratones blancos inoculados con P. berghei. (Tesis Profesional). Esc. Nac. Cienc. - Biol., I.P.N. México, D. F. 20 págs.

ALVING, A.S. et al

1962 Drugs, Parasites and Host. Págs. 83, Edit. Churchill, Londres.

APARICIO GARRIDO, J. y C. RAMOS MORITAN.

1952 El Plasmodium berghei Vincke y Lips, 1948
La Medicina Colonial, XIX 425-438

BALDI, A.

1950 Sul quadro anemico nell " infezione " da P. berghei. Riv. di Malar., XXIX, 349 -356.

BLACK, R. H.

1952 Ann. Trop. Med. Parasit., XLVI (2), 144 - 149 (Citado en Alday Tapia C. 1960)

BRAUDE Y STABROSKAYA.

1956 J. Gen. Chem. (URSS) 26, 999 (Inglés)
(Citado en Giral, F.,D. Peláez, et al., 1972)

BRUCE- CHWATT, L.J.

1967 Clinicals Trials of antimalarial drugs.
Trans, R. Soc. Trop. Med. Hyg. 61 (3)
412 - 420.

CORRADETTI, A. y F. VEROLINI

1951 Relazioni P. berghei e cellule della serie
rossa durante l'attacco primario nell'rato
albino. Rend. Ist. Sup. di San., XIV, 384

DE LA JARA, F.

1953 Acción del "Daraprim" sobre una cepa Mexicana
(IE) de Plasmodium relictum en palomas
(Columba livia) Tesis de la E. N. C. B. -
(I. P. N.) México, D. F. (Citado en DIAZ
PARDO . 1955)

DE LA JARA, F.

1955 Acción del Daraprim y la Primaquina asociadas,
sobre infecciones experimentales con P. galli-
naceum. Acta. Zool. Méx., I., (5), 1

DIAZ-PARDO, J. A.

1955 Determinación de la metahemoglobina en ratas
normales y parasitadas empleando dosis tóxicas
de medicamentos. (Tesis Profesional). Esc. -
Nac. Cienc. Biol., I.P.N. México, D. F. 32 págs.

FALCO, E. A., G.H. HITCHINGS, et al.

1949 Nature, CLXIV, (107)
(Citado en DIAZ-PARDO, 1955)

GARHAM, P.C.C.

1966 Malaria parasites and other haemosporia.
XVIII + 1114 págs; 92 láms. color Blackwell
Scientific Publications, Oxford.

GIRAL, F. y J. SENOSIAIN

1945 Síntesis de medicamentos antipalúdicos, VI. Inactividad de la 6-metoxi-8-(p-aminobencensulfanil)-aminoquinolina. Ciencia e Investigación (Buenos Aires) 1, 482.

GIRAL, F.

1945 Estudios sobre síntesis de medicamentos antipalúdicos. V. Preparación del Plasmocid, - 6-metoxi-8-(diethylamoniopropil)-aminoquinolina y de algunas de sus sales (clorhidrato, metilendisalcilato y estovarsolato). Ciencia (Méx.) 6, 253.

GIRAL, F. D. PELAEZ, et al.,

1972 Estudios sobre antipalúdicos en México (Informe a máquina; no publicado 26 págs, con amplia bibliografía). Facultad de Química, - U.N.A.M., México.

GOCHENOUR Jr., W. S.

1969 An estimate of the problem (en: Experimental Malaria) Military Medicine, spec. Iss., 134 (10) 737.

GONZALEZ-ESTOPIER, J.

1966 Investigación de la posible acción terapéutica de dos derivados de la 6-metoxi-8-aminoquinolina sobre ratones blancos infectados con Plasmodium berghei. (Tesis Profesional). Esc. Nac. Cienc. Biol., I.P.N., México, D. F., 20 págs.

GOWEN, J. W. y CALHOUM, M. L.

1943 Factors affecting genetic resistance of mice to mouse typhoid. J. Infect. Dis. 72, 40-56.

HAWKING, F.

1970 J. Parasitology, 56 (4), 140 (Resumen del II Congreso Internacional de Parasitología celebrado en Washington).
(Citado en Giral, F., Peláez, et al., 1972)

HELMAN, LINDBERG, et al.,

1972 Medical Technology Board examination review, 7^a Ed. I, (278) A. Berckley Scientific - Publication.

HILL, J.

1950 The squizonticidal effect of some antimalarials against Plasmodium berghei. Ann. Trop. Med. & Parasit., XLIV, 291 - 297.

LANDAU, I. y CHABAUD, A.

1965 Infection naturelle par deux Plasmodium rongeur Thamnomys rutilans en République Centrafricaine. C. R. Acad. Sc. Paris, 261, (Groupe 12) 230 - 232.

LANDAU, I. Y KILLICK-KENDRICK, R.

1966 Rodent Plasmodia of the République Centrafricaine. The sporogony and tissue stages of - - Plasmodium chabaud and P. berghei yoelii. Tran. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 60, (5); 633 - 648 + 3 láms.

LAPIERRE, J.

1954 Bull. Soc. Path. Exot., (3): 380 - 387.
(Citado en Alday-Tapia C. 1960)

MEYER, L.M. D.R. VORTON, et al.,

1949 Am. J. Med. Sc., CCXVIII, (197)
(Citado en Díaz-Pardo, 1955)

MUDROW - REICHENOW, L.

1951 Über die chemiotherapeutische Beeinflussbarkeit des P. berghei Vincke and Lips. Ztschr. f. Tropenmed. u. Parasitol., 11, 471- 485. -
(Resumen en Trop. Dis. Bull., XLVIII, 871-872.

PEREZ-REYES, R.

1953 Anopheles Aztecus (Hoffman, 1935) a new definitive host for the cyclical transmission of Plasmodium berghei Vincke and Lips, 1948, Jour. Parasit., XXXIX (6) 303 - 304.

PETERS, F.

- 1963 Cahiers de la Maboké, 1, p. 63 (Citado por Landau y Killick-Kendirck, 1965)
(Citado en Tovar - González, 1971)

PETERS, W.

- 1967 Rational Methods in the search for anti-malarial drugs. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 61 (3) 400 - 411.
(Resumen en Trp. Dis. Bull. 64, (12) 1302 1967).

PETERS, W.

- 1970 J. Parasitology, 56, (4) 266. (Resumen del II Congreso Internacional de Parasitología -* celebrado en Washington).
(Citado en Giral, F., D. Peláez, et al., 1972)

ROLLO, I. M.

- 1951 A 2:4 diaminopyrimidine in the treatment of proguanil-resistant laboratory malarial strains. Nature, CLXVIII, 372 (En Thurston 1953 a)
- 1952 Daraprim experimental chemotherapy. Tr. R. Soc. Trop. Med. & Hyg., 474 (En Thurston, 1953 a)
- 1952 " Daraprim" resistance in experimental malarial infections. Nature. CLXX, 415 (En Thurston 1953 a)

RUSSELL, E. S. y FONDAL, E. L.

1951 Quantitative of the normal and four alternative degrees of an inherited macrocytic anemia in the mouse. Number and size of the laboratory mouse
(Citado en. Tovar - González, 1971)

RUSSELL, E. S. y NEUFEL, E. F. y HIGGINS, C. T.

1951 Comparison of normal blood picture of young adults from 18 inbred strains of mice. Proc. Soc. Exp. Biol. Méd. 78, 761 - 766.

SANDOVAL, A. M.

1957 Quimioterapia del Paludismo. Medicina XXXVII, (775); 289 - 308.

SOBERON Y PARRA, G. y D. PELAEZ

1946 Producción nacional de medicamentos antipalúdicos. Ciencia (Méx.) 7, 221.

SCHNEIDER, J., P. DECOURT y G. MONTEZIN

1949 Sur l'utilisation d'un nouveau plasmodium (P. berghei) pour l'étude et la recherche de médicaments antipaludiques. Bull. Soc. Path. Exot. XLII, 449 - 452.

SCHNEIDER, J., MONTEZIN, G.

1949 Technique d'utilisation au laboratoire de la
nouvelle souche de Pl. berghei pour l'étude
et la recherche des médicaments antipaludiques
Bull. Soc. Path. Exot. 42, 449 - 452.

SCHNEIDER, J., G. MONTEZIN y R. DUPOUX.

1954 Bull. Soc. Path. Exot. XLVII 791
(Citado por De la Jara, 1955)

THURSTON, J. P.

1950 The action of antimalarial drugs in mice infec-
ted with Plasmodium berghei. Brit. J. Pharm. -
and Chemo., V, 409 - 416

THURSTON, J. P.

1953 a Plasmodium berghei. Exper. Parasitol., II ,
311 - 332.

TOVAR - GONZALEZ, M. P.

1971 Alteraciones hemáticas en ratones blancos ino-
culados experimentalmente con Plasmodium berg-
hei yoelii (Tesis Profesional) U.N.A.M. 40 -
pág. México, D. F.

VINCKE, I. H. y M. LIPS.

1948 Un nouveau plasmodium d'un rongeur sauvage du
Congo, P. berghei n. sp. Ann. Soc. Belge Méd.
Trop. 28, 94 - 104.