

## Efecto de la prodigiosina sobre la respiración de la forma de cultivo de *Schizotrypanum cruzi*\*

por

Rodrigo Zeledón\*\*

(Recibido para su publicación el 15 de diciembre de 1959)

La prodigiosina es un pigmento rojo, insoluble en agua, con propiedades antibióticas contra una serie de microorganismos, obtenido del bacilo prodigioso, *Serratia marcescens*. Químicamente está bien identificado como un derivado del tripirrimetano y la literatura histórica sobre el compuesto ha sido revisada por LACK (5). Este mismo autor lo encontró fungistático y fungicida contra *Coccidioides immitis* en altas diluciones *in vitro*. Con anterioridad había sido encontrado de acción efectiva contra varias bacterias y FISCHL (4) obtuvo curas parasitológicas después de inyectar prodigiosina en ratones infectados con *Trypanosoma brucei*. BALAMUTH y BRENT (1) encontraron una acción directa inhibitoria contra las formas de cultivo de *Entamoeba histolytica*. Asimismo, FELSENFELD *et al.* (3) observaron que pequeñas cantidades del antibiótico inhibe, *in vitro*, *E. histolytica*, *T. conorbini*, *Leishmania tropica*, *L. donovani* y *Schizotrypanum cruzi*. De otra parte, la prodigiosina administrada a animales de laboratorio puede prevenir infecciones experimentales por *E. histolytica*, *T. brucei* y *T. equiperdum*. Más recientemente, MCRARY *et al.* (7) encontraron que concentraciones tales como 10  $\mu\text{g}$  de prodigiosina por mililitro pueden inhibir totalmente el movimiento de la forma de cultivo de *S. cruzi* en pocos minutos, y la acción parece ser tripanocida. No conocemos ningún estudio metabólico tendiente a una determinación de la acción de la sustancia sobre parásitos.

### MATERIAL Y METODOS

La cepa de *S. cruzi* empleada es de origen costarricense y los detalles de aislamiento y método de cultivo han sido previamente descritos (10). La pro-

\* Este trabajo fue realizado en los laboratorios de fisiología de parásitos de la Facultad de Higiene de la Universidad de Johns Hopkins. El autor agradece al Dr. Clark P. Read las facilidades prestadas.

\*\* Departamento de Parasitología, Universidad de Costa Rica.

digiosina, una muestra de los Laboratorios Commercial Solvents Corporation de 93,1 por ciento de pureza, nos fue obsequiada por el Dr. Willard L. McRary, de grata memoria. Los cálculos de las concentraciones fueron basados en la sustancia pura y como solvente se usó el propilenglicol. Los estudios respiratorios fueron hechos de acuerdo con las técnicas manométricas corrientes de UMBREIT *et al.* (9) siguiendo los procedimientos ya anotados en publicación aparte (10). Las determinaciones de nitrógeno fueron hechas de acuerdo con la técnica descrita por LANG (6).

## RESULTADOS

Concentraciones muy bajas de prodigiosina se mostraron fuertemente inhibitorias de la respiración y del movimiento de *S. cruzi*. El efecto fue bastante más marcado en presencia de glutamina que cuando se usó glucosa como sustrato. Asimismo, el propilenglicol presentó un cierto grado de toxicidad para los flagelados. Los resultados se resumen en los cuadros 1 y 2. En las figuras 1 y 2 se aprecian gráficamente los grados de inhibición debidos a cada una de las concentraciones del antibiótico. En relación a la respiración endógena, la misma fue reducida en un 44,7 por ciento por el propilenglicol solo, y en un 90,6 por ciento en presencia de una concentración de 17  $\mu\text{g}$  de prodigiosina por ml ( $0,5 \times 10^{-4}\text{M.}$ ). Asimismo, la motilidad fue reducida en aproximadamente un 75 por ciento en el primer caso, en relación al control endógeno, y no se observaron organismos móviles en el segundo caso.

### CUADRO 1

*Efecto de la prodigiosina sobre la respiración de S. cruzi en presencia de glucosa en una concentración final de 0,01 M. y a 31° C. A cada frasco se adicionó, además de glucosa, 0,3 ml de propilenglicol o 0,3 ml de cada dilución de prodigiosina en propilenglicol. En la división central de cada frasco se colocaron 0,2 ml de KOH al 20% para completar un volumen final de 3,2 ml. Cada cifra representa la media de una determinación en duplicado.*

	Control + propilenglicol (1)	(1) + $0,5 \times 10^{-4}\text{M.}$ (17 $\mu\text{g/ml}$ )	(1) + $0,5 \times 10^{-5}\text{M.}$ (1,7 $\mu\text{g/ml}$ )	(1) + $10^{-6}\text{M.}$ (0,34 $\mu\text{g/ml}$ )
Porcentaje de inhibición en relación al control*	38,2	76,7	66,7	38,8
Motilidad**	++	0	±	++

\* Con glucosa solamente.

\*\* 0 = ausencia de movimiento; ± = muy pocos organismos con movimiento; + a +++ = grados intermedios de movimiento; ++++ = motilidad del control.

## CUADRO 2

Efecto de la prodigiosina sobre la respiración de *S. cruzi* en presencia de glutamina. Leyenda y símbolos como en el Cuadro 1.

	Control + propilenoglicol (1)	(1) + $0.5 \times 10^{-4}$ M. (17 $\mu$ g/ml)	(1) + $0.5 \times 10^{-5}$ M. (1,7 $\mu$ g/ml)	(1) + $10^{-6}$ M. (0,34 $\mu$ g/ml)
Porcentaje de inhibición en relación al control*	34,4	97,0	94,7	84,9
Motilidad	++	0	0	0

\* Con glutamina solamente.

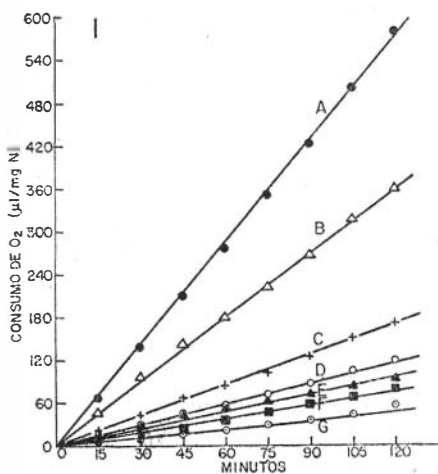


FIG. 1

A = glucosa, B = glucosa + propilenoglicol, C = glucosa + prodigiosina ( $10^{-6}$  M.), D = glucosa + prodigiosina ( $0.5 \times 10^{-5}$  M.), E = glucosa + prodigiosina ( $0.5 \times 10^{-4}$  M.), F = endógeno + propilenoglicol, G = endógeno + prodigiosina ( $0.5 \times 10^{-5}$  M.).

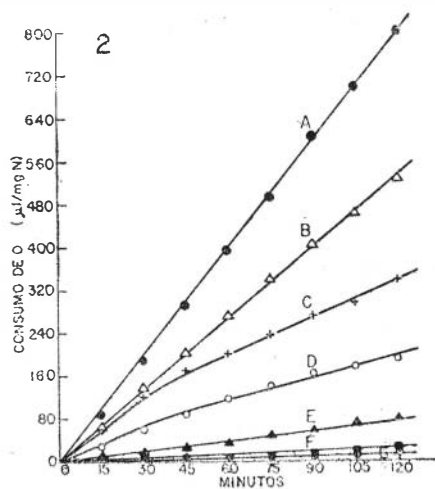


FIG. 2

A = glutamina, B = glutamina + propilenoglicol, C = endógeno, D = endógeno + propilenoglicol, E = glutamina + prodigiosina ( $10^{-6}$  M.), F = glutamina + prodigiosina ( $0.5 \times 10^{-5}$  M.), G = glutamina + prodigiosina ( $0.5 \times 10^{-4}$  M.).

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

La prodigiosina se muestra como un antibiótico activo contra varios microorganismos y los resultados aquí expuestos, para el caso de *S. cruzi*, muestran que altas diluciones de la sustancia son efectivas como bloqueadoras del metabolismo de los parásitos. El hecho de que inhibe la respiración y el movimiento en presencia de dos sustancias que se metabolizan por caminos diferentes, la convierte en una droga de promesa terapéutica para ciertos casos, como el presente, en que el metabolismo de glucosa no es fundamental desde el punto de vista energético (2). La utilización de glutamina como fuente de energía, produciendo estímulos respiratorios iguales o mejores a los producidos por glucosa en la forma de cultivo de esta especie, ha sido demostrada por ZELEDÓN (11). Desafortunadamente la prodigiosina parece ser bastante tóxica *in vivo* (3) por lo que su uso en terapéutica requeriría primero los trabajos de un químico orgánico. No estamos olvidando en estas consideraciones que el metabolismo de las formas de cultivo de algunos tripanosómidos puede presentar diferencias fundamentales en relación a su correspondiente forma sanguínea. Sin embargo, tal y como lo ha anotado RYLEY (8), en el caso de *S. cruzi* estas diferencias parecen ser menos importantes. El efecto del propilenoglicol podría explicarse, al menos en parte, por las propiedades que este líquido posee de activador de superficie.

## RESUMEN

Se prueba el efecto de la prodigiosina sobre la respiración de la forma de cultivo de *S. cruzi*. La dilución intermedia usada, correspondiente a una concentración final del antibiótico de  $0.5 \times 10^{-5} M$ . ( $1.7 \mu g/ml$ ), inhibió cerca del 67 por ciento de la respiración en presencia de glucosa y aproximadamente el 95 por ciento en presencia de glutamina. La motilidad de los flagelados es prácticamente nula en ambos casos después de 2 horas de exposición a  $31^{\circ} C$ . Se considera al antibiótico una droga de promesa terapéutica en la enfermedad de Chagas.

## SUMMARY

The effect of prodigiosin on the respiration of the culture form of *S. cruzi* at  $31^{\circ} C$  was studied by manometric techniques. The middle concentration of the antibiotic used ( $0.5 \times 10^{-5} M$ . or  $1.7 \mu g/ml$ ) inhibited respiration about 67 per cent in the presence of glucose and 95 per cent in the presence of glutamine, as compared with the controls with the substrates alone. At the end of the experiment (2 hours) all the organisms were practically motionless in both cases. Prodigiosin also inhibited a fraction of the endogenous respiration of the flagellates. Some considerations are made, in relation to the possible therapeutic use of the drug.

## BIBLIOGRAFIA

1. BALAMUTH, W. & M. M. BRENT  
1950. Biological studies on *Entamoeba histolytica* IV. Direct action of the anti-biotic Prodigiosin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 75: 374-378.
2. BRAND, T. VON, E. J., TOBIE, R. E., KISSLING & G. ADAMS  
1949. Physiological and pathological observations on four strains of *Trypanosoma cruzi*. *J. Infect. Dis.*, 85: 5-16.
3. FELSENFELD, G., G. W., MAST & S. J. ISHIHARA  
1950. Action of Prodigiosin on Protozoa. *J. Parasitol.*, 36 (Suplem.): 25.
4. FISCHL, V.  
1935. Chemotherapeutische Prüfung einiger Pyrrolfarbstoffe. *Z. Immunitätsforsch.*, 85: 77-80.
5. LACK A.  
1949. Prodigiosin. I. Antibiotic action on *Coccidioides immitis* in vitro. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 72: 656-658.
6. LANG, C. A.  
1958. Simple microdetermination of Kjeldahl nitrogen in biological materials. *Anal. Chem.*, 30: 1692-1694.
7. MCRARY, W. L., E. L. BEAVER & E. R. NOBLE  
1953. In vitro effects of Prodigiosin and other antibiotics on *Trypanosoma cruzi*. *Exp. Parasitol.*, 2: 125-128.
8. RYLEY, J. F.  
1956. Studies on the metabolism of the Protozoa. 7. Comparative carbohydrate metabolism of eleven species of trypanosome. *Biochem. J.*, 62: 215-222.
9. UMBREIT, W. W.; R. H. BURRIS & J. F. STAUFFER  
1957. *Manometric techniques*. 338 pp. Burgess Publ. Co. Minn.
10. ZELEDÓN, R.  
1960. Comparative physiological studies on four species of hemoflagellates in culture. I. Endogenous respiration and respiration in the presence of glucose. *J. Protozool.* (en prensa).
11. ZELEDÓN, R.  
1960. Comparative physiological studies on four species of hemoflagellates in culture. II Effect of carbohydrates and related substances and some amino compounds on respiration. *J. Parasitol.* (en prensa).