

## ACÇÃO "IN VITRO" DO FENIL-BORATO DE MERCÚRIO (PHB) SOBRE FUNGOS

Carlos da Silva LACAZ (1) e Paulo S. MINAMI (2)

### RESUMO

Os Autores verificaram "in vitro" a atividade antifúngica do fenil-borato de mercúrio (PHB), principalmente sobre dermatófitos dos generos *Microsporium*, *Trichophyton* e *Epidermophyton*. Algumas leveduras e raros fungos saprófitas foram igualmente ensaiados. As técnicas adotadas foram as de disco e de diluição seriada. Os resultados obtidos confirmam observações anteriores de que o PHB possui atividade antifúngica sobre os dermatófitos, leveduras e fungos saprófitas.

### INTRODUÇÃO

O fenil-borato de mercúrio (PHB, de Phenyl-hydrargiry boras) é um sal solúvel em água, álcool e clorofórmio, dotado de atividade antifúngica, já demonstrada entre outros por ALTERAS<sup>1, 2, 3</sup>, COJOCARU & col.<sup>4</sup>, GASHEN<sup>5</sup>, GRIGORIU<sup>6</sup>, GRIGORIU & FONT<sup>7</sup>, GRIGORIU & GRIGORIU<sup>9</sup>, ROJAS C. & OROZ M.<sup>11</sup> e WINKLER<sup>12, 13</sup>, entre outros.

Correspondendo à fórmula  $C_6H_5HgOH$ .  $C_6H_5HgBO(OH)_2$  possui também atividade antibacteriana, já referida por diversos pesquisadores.

Tendo recebido da CIBA-GEIGY QUÍMICA S. A. o referido produto, resolvemos ensaiá-lo "in vitro" sobre algumas leveduras, dermatófitos e fungos contaminantes, trabalhando com discos (50, 25 e 10  $\mu g$ ), bem como em caldo-Sabouraud, para uma avaliação quantitativa de sua atividade fungistática.

A presente investigação registra nossa experiência com esta droga.

### MATERIAL E MÉTODOS

a) *Preparo dos discos* — Para o preparo de discos contendo 50  $\mu g$ , 25  $\mu g$  e 10  $\mu g$

de PHB (\*) foram pipetados 0,1 ml em cada disco, de soluções de PHB em álcool etílico, nas concentrações de 5 mg, 2,5 mg e 1 mg por ml. Após evaporação em temperatura ambiente, os discos com 6 mm de diâmetro eram mantidos em geladeira.

b) *Preparação das placas* — As culturas foram suspensas em 1 ml de água destilada estéril, triturando-se com bastão de vidro, quando necessário. Esta suspensão foi colocada em placa estéril e depois misturada com 25 ml de ágar-Sabouraud previamente fundido e esfriado até 43-46°C. Após homogeneização, as placas foram secas em estufa a 37°C durante 1 hora, colocando-se em seguida os discos impregnados com PHB. A incubação se efetuou à temperatura ambiente durante período variável, conforme o crescimento da amostra. A leitura foi feita medindo-se o diâmetro médio, em mm, do halo de inibição.

c) *Amostras de fungos* — Mantidas em ágar-Sabouraud, algumas provenientes do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (Centro Integrado de Micologia) e outras, de culturas recentemente isoladas de casos

(1) Diretor do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo e Professor Titular do Departamento de Medicina Tropical e Dermatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil

(2) Professor Assistente Doutor do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo

(\*) Exomycol, CIBA-GEIGY

clínicos. Ao todo foram estudadas 18 amostras.

d) *Experiência em meio líquido, com diluições da droga* — Em 2,5 ml de etanol, foram diluídos 25 mg de PHB. Esta solução foi em seguida misturada em 250 ml de caldo-Sabouraud, fazendo-se a esterilização em placa filtrante de Seitz. Esta solução, com 100 µg/ml da droga, foi em seguida diluída sucessivamente em tubos contendo 5 ml de caldo-Sabouraud estéril. Foram preparados 9 tubos com diluições de 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,12, 1,56, 0,78 e 0,39 µg/ml da droga e um tubo-testemunho.

As culturas foram mantidas em ágar-Sabouraud. A semeadura foi feita com pequeno fragmento da colônia, deixando-se em incubação à temperatura ambiente até crescimento adequado do testemunho. A leitura foi realizada comparando-se o crescimento dos tubos com PHB com o tubo testemunho.

Foram estudados fungos saprófitas e patogênicos da Micoteca do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (Centro Integrado de Micologia) e amostras recentemente isoladas de casos da Clínica Dermatológica do Hospital das Clínicas (Serviço do Prof. Sebastião de Almeida Prado Sampaio).

As experiências foram efetuadas em duplicata, sendo que, sessenta e nove (69) amostras foram examinadas, incluindo-se nesses testes principalmente dermatófitos e leveduras, a saber:

<i>Microsporium canis</i>	10 amostras
<i>Microsporium gypseum</i>	1 amostra
<i>Trichophyton rubrum</i>	29 amostras
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9 amostras
<i>Epidermophyton floccosum</i>	9 amostras
<i>Candida albicans</i>	5 amostras
<i>Candida tropicalis</i>	1 amostra
<i>Rhodotorula sp.</i>	1 amostra
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1 amostra
<i>Penicillium sp.</i>	1 amostra
<i>Aspergillus flavus</i>	1 amostra
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1 amostra

Além dessas amostras foram ensaiadas através desse último método as utilizadas nos testes com discos.

## RESULTADOS

a) *Experiência com discos* — No Quadro I observa-se atividade antifúngica do PHB, incluindo-se fungos saprófitas e pato-

QUADRO I

Ação inibitória do fenil-borato de mercúrio (PHB) sobre algumas amostras de fungos

A m o s t r a s	Halo de inibição (mm de diâmetro) com discos de		
	10 µg	25 µg	50 µg
<i>Rhodotorula sp.</i>	21	25	28
<i>Trichophyton rubrum</i>	39	48	57
<i>Microsporium gypseum</i>	35	40	43
<i>Epidermophyton floccosum</i>	33	35	35
<i>Microsporium canis</i>	25	30	39
<i>Candida albicans</i>	25	26	29
<i>Epidermophyton floccosum</i>	60	65	67
<i>Trichophyton rubrum</i>	50	55	60
<i>Trichophyton rubrum</i>	35	40	53
<i>Candida tropicalis</i>	17	18	20
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	17	18	21
<i>Penicillium sp.</i>	27	29	31
<i>Aspergillus flavus</i>	16	21	26
<i>Cryptococcus neoformans</i>	23	25	28
<i>Candida albicans</i>	17	19	20
<i>Trichophyton rubrum</i>	35	60	60
<i>Epidermophyton floccosum</i>	40	47	62
<i>Microsporium canis</i>	18	19	27

gênicos. A ação inibitória ocorre mesmo em discos com concentrações de 10  $\mu\text{g}$ . O halo de inibição é proporcional à concentração da droga (Fig. 1).

b) *Experiência em meio líquido* — Os resultados em meio líquido, com diluições seriadas de PHB, estão resumidos nos Quadros II e III.



Fig. 1 — Ação do fenil-borato de mercúrio sobre algumas amostras de fungos

QUADRO II

Atividade "in vitro" do fenil-borato de mercúrio (PHB)

A m o s t r a	Concentração de PHB em µg/ml									C
	100	50	25	12,5	6,25	3,12	1,56	0,78	0,39	
<i>Rhodotorula sp.</i>	—	—	—	2	3	4	4	4	4	4
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	—	—	2	2	2	3	4
<i>Microsporium gypseum</i>	—	—	±	1	3	3	3	3	3	4
<i>Epidermophyton floccosum</i>	—	—	1	1	1	2	3	3	3	3
<i>Microsporium canis</i>	—	1	1	3	3	4	4	4	4	4
<i>Candida albicans</i>	—	—	3	3	3	3	3	3	3	3
<i>Epidermophyton floccosum</i>	—	—	—	—	—	—	—	2	3	3
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	1	1	2	2	3	3	4
<i>Candida tropicalis</i>	—	—	—	—	—	4	4	4	4	4
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	—	—	—	—	1	3	4	4	4	4
<i>Penicillium sp.</i>	—	—	±	1	2	4	4	4	4	4
<i>Aspergillus flavus</i>	—	—	—	1	1	4	4	4	4	4
<i>Cryptococcus neoformans</i>	—	—	1	1	2	3	3	3	3	3
<i>Candida albicans</i>	±	±	1	1	2	3	3	3	3	3
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	—	1	2	2	2	3	4
<i>Epidermophyton floccosum</i>	—	—	—	—	—	2	2	2	3	4
<i>Microsporium canis</i>	—	—	—	—	—	—	3	3	3	3

QUADRO III

Atividade "in vitro" do fenil-borato de mercúrio (PHB) sobre dermatófitos, leveduras e raros fungos contaminantes

A m o s t r a s	Concentração de PHB em µg/ml									C
	100	50	25	12,5	6,25	3,12	1,56	0,78	0,39	
<i>Microsporium canis</i>	—	—	—	—	—	1	3	4	4	4
<i>Microsporium canis</i>	—	1	1	3	3	4	4	4	4	4
<i>Microsporium canis</i>	—	—	—	—	—	—	3	3	3	3
<i>Microsporium canis</i>	—	—	—	—	2	3	4	4	4	4
<i>Microsporium canis</i>	—	—	—	—	3	3	3	3	3	3
<i>Microsporium canis</i>	—	—	—	—	—	—	2	3	4	4
<i>Microsporium canis</i>	—	—	—	—	—	2	2	2	3	4
<i>Microsporium canis</i>	—	—	—	—	—	1	3	4	4	4
<i>Microsporium canis</i>	—	—	—	—	3	3	4	4	4	4
<i>Microsporium canis</i>	—	—	—	—	—	1	4	4	4	4
<i>Microsporium gypseum</i>	—	—	±	1	3	3	3	3	3	4
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	—	—	2	3	4	4	4
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	—	1	2	3	4	4	4
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	1	1	1	2	2	4	4	4	4
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	—	1	1	3	4	4	4
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	1	2	4	4	4	4	4
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	2	3	4	4	4	4	4
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	—	1	3	3	4	4	4
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	—	1	2	3	4	4	4
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	—	2	3	3	4	4	4
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	1	2	2	2	2	2	4
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	1	2	2	2	3	4	4
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	1	2	3	3	4	4	4
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	—	1	2	2	2	3	4
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	—	2	3	3	4	4	4
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	—	2	2	3	4	4	4
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	1	2	2	3	4	4	4	4

QUADRO III (Continuação)

A m o s t r a s	Concentração de PHB em µg/ml									C
	100	50	25	12,5	6,25	3,12	1,56	0,78	0,39	
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	—	1	2	4	4	4	4
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	1	2	2	3	4	4	4
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	—	1	1	4	4	4	4
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	—	—	1	2	2	3	3
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	—	1	3	4	4	4	4
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	—	1	2	3	3	3	4
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	1	1	2	2	3	3	4
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	—	±	2	3	3	3	3
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	—	—	2	2	2	2	3
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	—	2	2	2	3	3	3
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	1	2	3	4	4	4	4
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	—	1	2	2	3	3	3
<i>Trichophyton rubrum</i>	—	—	—	—	—	2	4	4	4	4
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	—	—	±	1	2	4	4	4	4	4
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	—	—	—	—	2	3	4	4	4	4
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	—	—	—	—	2	2	3	4	4	4
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	—	—	—	1	2	3	4	4	4	4
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	—	—	—	—	1	2	3	4	4	4
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	—	—	—	—	2	3	4	4	4	4
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	—	—	—	—	1	3	3	4	4	4
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	—	—	—	—	1	4	4	4	4	4
<i>Epidermophyton floccosum</i>	—	—	—	—	1	1	2	2	2	2
<i>Epidermophyton floccosum</i>	—	—	—	1	2	2	3	3	3	3
<i>Epidermophyton floccosum</i>	—	—	—	—	2	2	3	4	4	4
<i>Epidermophyton floccosum</i>	—	—	—	—	—	—	±	1	1	4
<i>Epidermophyton floccosum</i>	—	—	—	—	±	2	3	4	4	4
<i>Epidermophyton floccosum</i>	—	—	—	—	—	—	—	2	3	3
<i>Epidermophyton floccosum</i>	—	—	1	1	1	2	3	3	3	3
<i>Epidermophyton floccosum</i>	—	—	—	—	—	—	—	3	3	3
<i>Epidermophyton floccosum</i>	—	—	—	—	—	2	2	2	3	4
<i>Candida albicans</i>	±	±	1	1	2	3	3	3	3	3
<i>Candida albicans</i>	—	1	1	1	1	1	1	4	4	4
<i>Candida albicans</i>	±	1	1	1	3	3	3	3	3	3
<i>Candida albicans</i>	—	±	1	1	2	2	2	3	3	3
<i>Candida albicans</i>	—	—	3	3	3	3	3	3	3	3
<i>Candida tropicalis</i>	—	—	—	—	—	4	4	4	4	4
<i>Rhodotorula sp.</i>	—	—	—	2	3	4	4	4	4	4
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	—	—	—	—	1	3	4	4	4	4
<i>Penicillium sp.</i>	—	—	±	1	2	4	4	4	4	4
<i>Aspergillus flavus</i>	—	—	—	1	1	4	4	4	4	4
<i>Cryptococcus neoformans</i>	—	—	1	1	2	3	3	3	3	3

Crescimento: 4 = abundante  
 3-2 = moderado  
 1 = mínimo  
 ± = duvidoso  
 - = ausência de crescimento  
 C = controle

D I S C U S S Ã O

O PHB apresenta nítida atividade anti-fúngica, observada pela técnica dos discos e diluições seriadas em meio líquido.

Nota-se que a sensibilidade é variável de acordo com a espécie considerada, ou mes-

mo dentro da mesma espécie, conforme a amostra.

De modo geral os dermatófitos são mais sensíveis à atividade da droga. As leveduras, como a *Candida albicans* demonstraram-se menos sensíveis, pela técnica das diluições

seriadas e isto porque em placas, a concentração da droga pode atingir níveis mais elevados, sendo a leitura da reação também mais precoce (24-48 hs). Comparativamente, as duas técnicas demonstram, de modo geral, igual atividade antifúngica do PHB.

Face aos resultados por nós obtidos, consideramos a droga em apreço merecedora de ser ensaiada clinicamente em casos de dermatomicoses superficiais, incluindo levedurosas. Aliás, vários ensaios clínicos praticados no exterior demonstraram também "in vivo" atividade anti-micótica, com a referida droga.

#### S U M M A R Y

##### *In vitro activity of PHB against fungi*

The Authors tested the antifungic activity of Phenylmercuric Borate (PHB), "in vitro", mainly on dermatophytes belonging to the following strains: *Microsporium*, *Trichophyton* and *Epidermophyton*. Some yeasts and rare saprophytic fungi, were equally tested. The chosen technics were those of discs and in serial dilution. The attained results confirmed anterior observations regarding PHB antifungic activity on dermatophytes, yeasts and on the examined saprophytic fungi.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALTERAS, I. — Essais cliniques d'un nouvel antifongique à base de PHB dans les infections à dermatophytes. *Mykosen* 12: 499-502, 1969.
- ALTERAS, I. — Lokalbehandlung verschiedener Hautpilzkrankungen mit einem neuen antimykotischen Gel (Z 1141). *Praxis* 52: 1820-1823, 1970.
- ALTERAS, I. — Traitement local des onychomycoses à dermatophytes avec un nouvel hydrogel à base de PHB. *Mykosen* 14: 45-46, 1971.
- COJOCARU, I.; ALTERAS, I. & DULAMITA, L. — Some date on the treatment of otomycoses. *Mykosen* 13:243-246, 1970.
- GASCHEN, M. — In-vitro-Prüfung der antifungischen Eigenschaften von Phenylhydrargyri boras auf acht pathogene Pilzstämmen. *Pharmaceutica Acta Helvetiae* 45:614-647, 1970.
- GRIGORIU, D. — Un cas insolite de pityriasis versicolor. *Mykosen* 11:409-412, 1968.
- GRIGORIU, D. & FONT, N. — Les Otomycoses. *Dermatologica* 141:138-143, 1971.
- GRIGORIU, D. & GRIGORIU, A. — Observaciones sobre la clinica, etiologia y terapeutica de la pitiriasis versicolor. *Méd. & Hyg.* 27:1081-1082, 1969.
- GRIGORIU, D. & GRIGORIU, A. — Prüfung der antimykotischen Eigenschaften von Phenylhydrargyri boras. *Klinische Untersuchung. Dermatologica* 139:286-290, 1969.
- GRIGORIU, D. & GRIGORIU, A. — Estudio experimental del poder antifungico del phenylhydrargyri boras. *Estudio in vitro. Mykosen* 12:167-176, 1969.
- GRIGORIU, D. & GRIGORIU, A. — Estudio experimental sobre la actividad antifungoide del borato de fenilmercurio. II — Ensayo in vivo. *Mykosen* 13:85-90, 1970.
- ROJAS C., A. & OROS M., J. — Efecto del borato de fenilmercurio (Z 1141) en el tratamiento de las tiñas en los niños. *Dermatol. Ibero Latino Amer.* 12:273-279, 1970.
- WINKLER, A. — Endemie durch *Mikrosporium canis*, übertragen durch eine Siam-Katze. *Mykosen* 13:45-48, 1970.
- WINKLER, A. — Dermatomykosen-Behandlung mit einem neuen Hydrogel. *Mykosen* 13:481-489, 1970.

Recebido para publicação em 15/5/1973.