

## Estudio comparativo de la toxicidad del salicilato de sodio extractivo y sintético

(Con 4 figuras)

Por los Drs. ALBERTO TORINO y MANUEL LITTER

---

La amplia difusión del salicilato de sodio, como agente terapéutico de predilección para combatir la fiebre reumática, y la escasa crítica con que se aceptan ideas generales que perduran, ha dado origen a una serie de suposiciones en lo que concierne a la actividad de sales obtenidas por diversos métodos.

Es corriente escuchar por boca de los médicos que utilizan esta sustancia, que la actividad terapéutica y la toxicidad revelada por las manifestaciones de intolerancia, son variables según se emplee el salicilato de sodio sintético o el llamado natural, mejor dicho, extractivo. Las opiniones al respecto son más favorables para el empleo del último.

Esta aserción, basada tal vez en un espíritu tradicionalista, ha sido objeto de algunos estudios de los que mencionaremos especialmente los de WADDELL (1911), quien comparó la toxicidad de ambos en gatos, ratas y conejos, utilizando la vía subcutánea. De sus experiencias, practicadas en escaso número de animales, deduce que no existe diferencia visible.

BARTHOLOW y McNEIL (1917), efectúan estudios comparativos de toxicidad en conejos inyectados por vía endovenosa con dosis sucesivas, hasta producir la muerte, y a pesar de que hacen algunas reservas en lo que respecta a la actividad y rapidez de eliminación por el aparato urinario, llegan a la conclusión de que ambos poseen la misma toxicidad. Los ensayos realizados con la administración por vía gástrica con dosis sucesivas, dieron resultados análogos a los ya mencionados.

En perros, tampoco observan diferencias llamativas, aunque encuentran que los síntomas de intolerancia son menos marcados con el salicilato natural. En el hombre, afirman que los trastornos gás-

tricos y los fenómenos cerebrales, son más moderados, por lo que concluyen que es mejor utilizar el producto natural.

HANZLIK (1926) establece que no existen diferencias entre ambas sustancias y cita como dato interesante que la dosis tóxica de cualquiera de ellas en diversas especies y por distintas vías de administración, es igual y corresponde a 1,0-1,5 g por Kg de animal.

WINTER y BARBOUR (1928), determinan la dosis tóxica del salicilato de sodio, sin mencionar la proveniencia del mismo ni tampoco la vía de administración y la fijan en 600 mg por Kg de ratón.

JOHNSON y HANZLIK (1929), determinan la toxicidad comparativa de diversas sales del ácido salicílico (sodio y amonio), en ratas y ratones, por vía hipodérmica. La dosis mortal mínima (que establecen arbitrariamente como aquella que mata el 50 % o más de los animales inyectados), la fijan en 0,6 g por Kg de rata y 0,55 g por Kg de ratón, para la sal de amonio. Comparando estos resultados con los ya conocidos del salicilato de sodio (0,65 g por Kg de rata), concluyen que no existen diferencias importantes entre estas dos sales. Estos autores tampoco mencionan diferencias entre el salicilato natural y el sintético.

DELPHAUT (1936), realiza una serie de experiencias, mediante la perfusión lenta en el perro y observa que la dosis mortal es de 1,00-1,06 g por Kg, para el salicilato de sodio puro y cristalizado. Otras muestras de salicilato de sodio no cristalizado, impurificadas con borato de sodio y ácido salicílico libre, son ligeramente más tóxicas. La asociación de salicilato con el bicarbonato de sodio o la administración previa de digitalina, permiten reducir la toxicidad del mismo.

SOLLMANN (1936), establece que la dosis mortal para el perro, por vía intravenosa, es de 1 g por Kg de peso aproximadamente. Afirma que la suposición de la toxicidad menor del salicilato natural « no resiste un examen crítico ».

EDMUNDS y GUNN (1936), mencionan la opinión corriente sobre una pretendida toxicidad reducida del producto natural, pero afirman que dicha conclusión no es exacta.

POYNTON y SCHLESINGER (1937), dicen textualmente « parece no haber diferencias demostrables de toxicidad entre el producto natural y el sintético ».

A pesar de que desde hace muchos años existen experiencias tendientes a demostrar que la toxicidad de ambos salicilatos es igual, hasta la época presente muchos autores no se aventuran a ser categóricos en ese sentido.

Por otra parte, del estudio de la bibliografía mencionada, se deduce que las experiencias de toxicidad mediante las cuales se inten-

ta probar la falta de diferencia entre los productos en cuestión, han sido practicadas con un número de animales tan reducido, que surge a primera vista la objeción consiguiente.

Nuestro objeto ha sido el de investigar el problema, mediante el empleo de los métodos que actualmente, después de los trabajos de TREVAN (1927), GADDUM (1933) y BURN (1937), se utilizan corrientemente, para estudiar la toxicidad de una sustancia aplicando los métodos estadísticos para establecer las diferencias significativas y los límites de error de dichas determinaciones.

#### MATERIAL Y METODOS

1º — *Drogas utilizadas.* — Hemos tenido a nuestra disposición dos muestras de salicilato de sodio, una de ellas, salicilato sintético, obtenido a partir del fenol, y la otra extractivo, preparado con el ácido salicílico natural extraído de la esencia de Wintergreen. Ambas muestras (\*) poseen las características que se exigen en la Farmacopea Británica (B. P. 1932) y son:

Contiene 99,5 % de salicilato de sodio puro (\*\*).

Límites de impureza:

Arsénico, 2 partes en 1,000,000.

Plomo, 10 partes en 1,000,000.

Metales pesados, vestigios.

Hierro, vestigios.

Cloruros, vestigios.

Sulfatos, vestigios.

Sulfitos, no contiene.

Impurezas orgánicas, no contiene.

Carbonatos, no contiene.

Fenol libre, no contiene.

P. F. ácido salicílico obtenido de esta sal: 158-159°C.

Ninguno de ellos tiene agua de cristalización, ni tampoco las impurezas que habitualmente contiene el salicilato de sodio sintético comercial, a saber: ácido cresotínico, ácido p-hidroxibenzóico, ácido hidroxí-isoftálico.

Todos los ensayos se verificaron con una solución al 4 % P/V en agua bidestilada.

(\*) Agradecemos a la casa Burroughs Wellcome & Co, el habernos facilitado para nuestro estudio las drogas utilizadas.

(\*\*) Comprobamos la exactitud del contenido de salicilato, por el método químico, indicado en la Farmacopea Británica (B.P., 1932).

2º — *Animales utilizados.* — Se empleó una cepa de ratones blancos provenientes del Rockefeller Institute for Medical Research de Nueva York, alimentados con la dieta corriente del criadero del Instituto Bacteriológico (TORINO, LITTER y LITTER, 1940).

3º — *Técnica de la inyección.* — Los ratones se inyectaron por vía intravenosa con una jeringa de tuberculina de 1 cm<sup>3</sup> (BEKTON y DICKINSON), cuya calibración es sumamente exacta y controlada por el gobierno de los E. U. de N. A. y que ofrece la garantía de la inyección efectiva de los volúmenes indicados.

Para inyectarlos, se colocan en un cilindro de alambre tejido, abierto en uno de sus extremos. Se obtura dicho extremo con un tapón en el que existe una gotera excavada que permite pasar la cola al exterior. Se dilatan las venas del apéndice caudal mediante un baño de agua caliente a 50°, durante 1/2 minuto. Un ayudante sostiene el cilindro con una mano, mientras que comprime la base de la cola con dos dedos de la otra mano, para ingurgitar las venas: el operador mantiene la cola extendida y con la jeringa armada con una aguja de 0.4 mm, efectúa la inyección, que se hace con suma facilidad. Si la aguja no está en la luz del vaso, se observa que una presión mínima del émbolo, provoca la aparición de una pequeña bola de edema. Aún cuando un poco de práctica permite inyectar correctamente el líquido, a veces tuvimos que sacrificar algunos animales porque una pequeña cantidad (0,01 cm<sup>3</sup>) había sido inyectada fuera de la vena. Se tomó la precaución de uniformar la velocidad de la inyección que, aunque en este caso carece de importancia, fué de alrededor de 10 segundos. Cada lote de 30 ratones se inyectó en 20 minutos aproximadamente.

Una vez efectuada la inyección se observa en los animales inyectados con dosis grandes, la aparición de síntomas tóxicos netos: convulsiones tónico-clónicas, temblores, paresia de los miembros, hipotermia, adinamia y muerte, variable entre algunos segundos y 96 horas.

Prácticamente se puede considerar que los animales que sobreviven a las 12 horas, se mantienen con vida indefinidamente, razón por la cual todas las indicaciones de mortalidad que se expresan en el presente trabajo se refieren a dicho lapso.

Las soluciones se prepararon en el momento de utilizarse; su concentración fué constante (4 % P/V); todo el material de medida utilizado fué el mismo en todos los ensayos y las inyecciones efectuadas por el mismo operador. La temperatura ambiente varió dentro de límites muy escasos (20 a 25°C).

## RESULTADOS

Para establecer la comparación de la toxicidad entre ambos salicilatos, hemos utilizado los procedimientos indicados por TREVAN (1927), BURN (1937) y GADDUM (1933). Los dos primeros exigen la construcción previa de la curva característica de toxicidad.

A). — CONSTRUCCIÓN DE LA CURVA DE TOXICIDAD DEL SALICILATO DE SODIO. — Hemos tomado como término de comparación para nuestros ensayos el salicilato de sodio sintético, ya que es el más corrientemente utilizado.

Nuestro primer objeto fué el de construir la curva característica de toxicidad del salicilato de sodio para los ratones blancos. Efectivamente, TREVAN (1927), demostró que con cada sustancia y para cada especie animal, se puede construir una curva de mortalidad característica para dicha sustancia y dicha especie, independientemente de las muestras utilizadas y de los días en que se verifican las experiencias. Si bien es cierto que en dos ensayos realizados en días distintos, pueden modificarse las dosis absolutas que producen un porcentaje de mortalidad dado, la curva que relaciona dosis con porcentaje de mortalidad no varía en su forma, desplazándose solamente en el eje de las abscisas. BURN (1937), ha obviado este inconveniente, reemplazando las dosis por cifras arbitrarias mediante un razonamiento que mencionaremos luego.

Como ensayo preliminar se inyectaron dosis crecientes de salicilato de sodio por vía intravenosa para determinar aproximadamente aquellas que convenía utilizar. Se consiguió localizar las dosis mortales 0 y 100 % entre 0,25 y 1,00 mg por g de ratón. En este experimento se utilizaron 70 ratones en total.

Se determinó en 6 días distintos, la mortalidad obtenida (hasta las 12 horas de la inyección), inyectando por vía intravenosa las dosis siguientes: 0,20 - 0,40 - 0,60 - 0,80 - 1,00 mg por g de ratón. Cada lote constaba de 30 animales. Se eligió esta cantidad, ya que TREVAN (1927), mediante estudios estadísticos, demostró que es suficiente, en experiencias cualitativas (es decir, en este caso, muerte o supervivencia), para obtener un grado de exactitud satisfactorio. En la tabla I se indican los resultados obtenidos.

TABLA I

Dosis en mg. por g. de ratón	1er. día	2º día	3er. día	4º día	5º día	6º día
0.20	0/30	0/30	0/30	0/30	0/30	0/30
0.40	10/30	1/30	1/30	0/30	17/30	3/30
0.60	28/30	18/30	14/30	11/30	30/30	25/30
0.80	30/30	29/30	30/30	30/30	30/30	30/30
1.00	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30

El denominador indica la cantidad de animales inyectados; el numerador, la cantidad de animales muertos dentro de las 12 horas.

La tabla II, indica los resultados calculados en porcentajes de mortalidad.

TABLA II

Dosis en mg. por g. de ratón	Mortalidad %					
	1er. día	2º día	3er. día	4º día	5º día	6º día
0.20	0	0	0	0	0	0
0.40	33	3	3	0	57	10
0.60	93	60	47	37	100	83
0.80	100	97	100	100	100	100
1.00	100	100	100	100	100	100

Los datos que anteceden deben ahora combinarse en forma tal que se obtengan cifras utilizables para la confección de una sola curva, que será la característica de la mortalidad de los ratones blancos con el salicilato de sodio. Como puede verse, las cifras de mortalidad para una misma dosis en distintos días, son sumamente variables, lo que no debe extrañar, ya que es un hecho universalmente reconocido que la sensibilidad de los animales varía de un día a otro. Por ello, es menester recurrir a un procedimiento tal que fije los efectos obtenidos en función de una cifra arbitraria que represente la magnitud de las dosis.

De esto se deduce que la forma que desgraciadamente se emplea muy a menudo para indicar la dosis tóxica de una sustancia para una especie animal determinada, es absolutamente inútil y carece de sentido. Nos referimos al procedimiento que se basa en la inyec-

ción de algunos animales en un solo día, con dosis variables, sin tener en cuenta la variación de la sensibilidad.

Para fijar esas cifras arbitrarias, hemos seguido el método que preconiza BURN (1937), y que consiste en establecer gráficamente la curva de mortalidad individual de cada día, determinar la dosis que mata el 50 % de los animales (D L 50) y recalcular en función de dicha dosis tomada como unidad, cuál sería la magnitud relativa de las dosis que producen las mortalidades observadas.

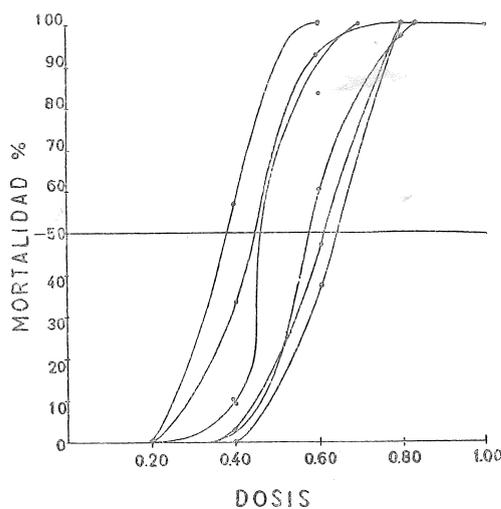


FIG. 1.

De acuerdo con las indicaciones de DANIELS (1934) y de GINI (1935), debe efectuarse el trazado de las curvas mediante el uso de líneas que sufren la influencia de todos los puntos obtenidos experimentalmente, utilizando para ello, no líneas rectas sino curvas adecuadas. Para la construcción de nuestros gráficos hemos utilizado pistoletes.

La fig. 1, corresponde a las curvas individuales obtenidas con el salicilato de sodio sintético, de acuerdo con los datos de la Tabla II.

En la Tabla III se indican los porcentajes de mortalidad realmente obtenidos y las dosis correspondientes calculadas arbitrariamente, considerando como 1,00 la dosis que mata el 50 % de los ratones (D L 50) y que ha sido deducida del examen de las curvas individuales de la fig. 1; esta dosis se halla indicada por el punto del eje de abscisas que corresponde a la mortalidad 50 %.

TABLA III

Dosis letal 50 (mg. por g.)	1er. día		2º día		3er. día		4º día		5º día		6º día	
	0.45		0.57		0.61		0.64		0.38		0.46	
	Dosis	Mor- tali- dad	Dosis	Mor- tali- dad	Dosis	Mor- tali- dad	Dosis	Mor- tali- dad	Dosis	Mor- tali- dad	Dosis	Mor- tali- dad
	0.44	0	0.35	0	0.33	0	0.31	0	0.53	0	0.43	0
	0.89	33	0.70	3	0.65	3	0.62	0	1.05	57	0.87	10
	1.33	93	1.05	60	0.98	47	0.94	37	1.58	100	1.30	83
	1.78	100	1.40	97	1.31	100	1.25	100	2.10	100	1.74	100
	2.22	100	1.75	100	1.64	100	1.56	100	2.63	100	2.02	100

Se ordenan las dosis con respecto a mortalidades crecientes y con estos datos que en realidad no representan dosis reales, como ya

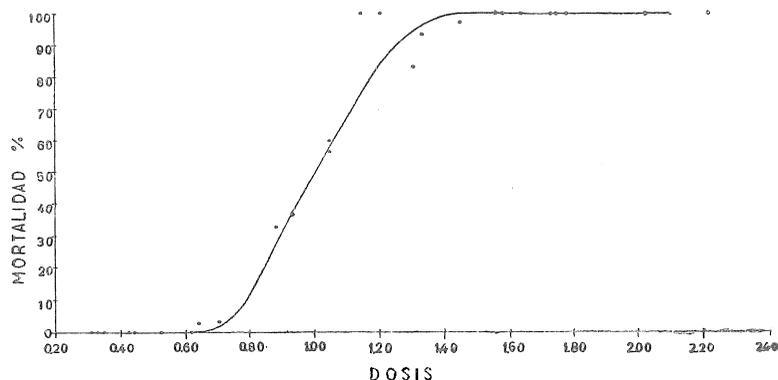


FIG. 2.

hemos explicado, sino relación entre las diversas cantidades con respecto a la dosis mortal 50 % (= 1,00), se construye la curva característica de mortalidad del salicilato de sodio para los ratones blancos.

Para el trazado de esta curva, hemos utilizado igualmente un pistoleta, en forma tal, que la curva trazada representara la resultante de los diversos puntos experimentales inscriptos. Esta curva es la que representa la fig. 2.

Como vemos, la forma de la curva es sigmoidea y concuerda con la que describió SHACKELL y col. (1924), para diversas sustancias, como característica de la relación dosis-efecto y confirmada posteriormente por TREVAN (1927) y GRAY, TREVAN, BAINBRIDGE y ATTWOOD (1931), para las curvas de mortalidad.

B).— COMPARACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL SALICILATO DE SODIO NATURAL Y SINTÉTICO POR EL MÉTODO DE TREVAN (1927).— Como la sensibilidad de los ratones se puede modificar en el curso de distintos días (RÉGNIER, LAMBIN y SZOLLOSI (1937), TREVAN (1927), se procedió a la inyección de diversas dosis de ambos salicilatos en el mismo día, única forma en que se puede obviar este inconveniente. Los resultados se consignan en la tabla IV.

TABLA IV

Dosis en mg. por g. de ratón	Salicilato de sodio sintético	Salicilato de sodio natural
0.20	0/30	0/30
0.40	3/30	1/30
0.60	25/30	25/30
0.80	30/30	30/30
1.00	30/30	30/30

El denominador indica la cantidad de animales inyectados; el numerador, la cantidad de animales muertos dentro de las 12 horas.

En la tabla V, se encuentran los resultados calculados en porcentajes de mortalidad.

TABLA V

Dosis en mg. por g. de ratón	Mortalidad %	
	Salicilato de sodio sintético	Salicilato de sodio natural
0.20	0	0
0.40	10	3
0.60	83	83
0.80	100	100
1.00	100	100

Una vez establecida la curva característica de la fig. 2, hallamos, como propuso TREVAN (1927), la dosis que mata el 50 % de los ra-

tones, en la siguiente forma: se determina la longitud de la abscisa que corresponde a cada mortalidad observada con el salicilato de sodio natural y con el sintético, midiéndola en la curva característica de la fig. 2. En la Tabla VI, se indican los resultados obtenidos, que se limitan a las dosis 0,40 y 0,60 solamente, ya que las otras han producido la muerte de todos o no han producido la muerte de ninguno de los animales inyectados, y no deben por consiguiente estimarse, ya que cualquiera de ellas, pudo haber correspondido a una dosis mayor o menor respectivamente que la inyectada.

TABLA VI

Dosis en mg. por g. de ratón	Salicilato de sodio sintético		Salicilato de sodio natural	
	Mortalidad %	Longitud de la abscisa	Mortalidad %	Longitud de la abscisa
0.40	10	0.79	3	0.72
0.60	83	1.19	83	1.19

Para determinar la dosis mortal 50 % se hace el siguiente cálculo: la dosis 0,40 del salicilato de sodio sintético, produce un 10 % de mortalidad y tiene una abscisa igual a 0,79; la dosis letal 50 %, tiene una abscisa igual a 1,0; luego, la relación entre la dosis que produce 50 % y 10 % de mortalidad es igual a  $1.0/0.79$ ; como esta mortalidad del 10 %, ha sido obtenida inyectando 0,40 mg por g de ratón, la dosis mortal 50 % (DL 50) es igual a  $\frac{0.40 \times 1.00}{0.79} = 0,506$  mg.

Análogamente se calcula el valor de la dosis letal 50 % para las dos sustancias y para las dosis 0,40 y 0,60. Los resultados están consignados en la Tabla VII.

TABLA VII

Dosis en mg. por g. de ratón	Dosis letal 50		Relación D L 50 Natural/sintético
	Salicilato de sodio sintético	Salicilato de sodio natural	
0.40	0.506	0.555	1.10
0.60	0.504	0.504	1.00

Esto indicaría que la toxicidad relativa es ligeramente inferior para la sal natural en el ensayo con la dosis 0,40, mientras que con

la dosis 0,60 ambas sales son exactamente iguales con respecto a su toxicidad.

Como podemos deducir de la simple observación de la curva, los valores serán tanto más exactos cuanto más próxima sea la mortalidad observada a la del 50 %, ya que en este punto la curva es mucho más empinada, produciéndose por lo tanto un incremento grande de la mortalidad con variaciones relativamente pequeñas de las dosis. En cambio, en ambos extremos, en los que la curva se aplana considerablemente, grandes variaciones de la dosis, producen solamente aumentos pequeños de mortalidad. Además, la parte de la curva trazada entre las mortalidades próximas al 50 %, tiende a ser casi una línea recta, de modo que la relación entre la ordenada y la abscisa, es prácticamente lineal; por consiguiente, la exactitud de nuestro razonamiento (que no es otra cosa que una simple regla de tres), está más de acuerdo con la realidad en el caso de la dosis 0,60, que asigna igual toxicidad a ambas sales.

C). — COMPARACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL SALICILATO DE SODIO NATURAL Y DEL SINTÉTICO POR EL MÉTODO DE BURN (1937). — Este autor propuso, para determinar la potencia relativa (en este caso toxicidad relativa) de dos sustancias, el cálculo siguiente: se buscan en la curva característica las abscisas correspondientes a las mortalidades observadas con las mismas dosis de ambas sustancias y se establece la relación correspondiente. Para las dosis 0,40 y 0,60, el cálculo se efectúa en la siguiente forma: (Tabla VIII).

TABLA VIII

Dosis en mg. por g. de ratón	Mortalidad %		Abscisas		Relación de toxicidad sintético/natural
	Sintético	Natural	Sintético	Natural	
0.40	10	3	0.79	0.72	1.10
0.60	83	83	1.19	1.19	1.00

En ese caso, la relación está establecida tomando como denominador el salicilato natural; por ello, hay que interpretar con cuidado los resultados, porque están invertidos los términos con respecto a los resultados indicados en la Tabla VII (Método de TREVAN). Como puede verse, los resultados son concordantes e indican una toxicidad relativa, ligeramente superior para la sal sintética, en el ensayo con la dosis 0,40. En cambio, para la dosis 0,60, los resultados son iguales.

*Cálculo de la Desviación Standard.* — Sea  $N$  la cantidad de animales inyectados con la misma dosis de una droga por unidad de peso,  $p$  el porcentaje de animales en los que se revela un efecto positivo cualquiera (en este caso, muerte) y  $q = 100 - p$ .

La desviación standard ( $\sigma$ ) del porcentaje  $p$ , será igual a  $\sqrt{pq/N}$

Aplicando dicha fórmula a los resultados obtenidos con la dosis 0,40, tendremos:

$$\sigma = \sqrt{\frac{10 \times 90}{30}} = \pm 5,48 \qquad \sigma = \sqrt{\frac{3 \times 97}{30}} = \pm 3,11$$

Según el cálculo de probabilidades y suponiendo que en este caso, la curva de mortalidad es una curva de distribución normal de frecuencia (que según GADDUM (1933), ocurre para todos los fenómenos biológicos mensurables), esto significa que dos veces de tres en que se realice el experimento, las mortalidades observadas estarán comprendidas entre  $p \pm \sigma$ , esto es, en nuestro caso: para la dosis 0,40 del salicilato sintético, la mortalidad variará entre 15,48 y 4,52 % y para la sal sintética entre 6,11 y -0,89 %.

Como este último valor (-0,89), carece de sentido, ya que la mortalidad se debe expresar en cantidades positivas, la consideramos arbitrariamente como mortalidad 0, en este caso, el punto en que la curva corta al eje de las abscisas.

Ahora se busca en la abscisa de la curva característica (fig. 2), las magnitudes correspondientes a estas distintas mortalidades (Tabla IX).

TABLA IX

Salicilato de sodio sintético		Salicilato de sodio natural	
Mortalidad	Abscisa	Mortalidad	Abscisa
15.48	0.82	6.11	0.76
4.52	0.75	0.00	0.63

La mitad de la diferencia entre las magnitudes correspondientes a las distintas mortalidades, nos da la desviación standard de la mortalidad, referidas a la abscisa, y que son  $\pm 0,035$  y  $\pm 0,065$ . Cada desviación standard se calcula como porcentaje de la magnitud de la abscisa correspondiente a cada mortalidad observada. (Tabla VIII). Este valor se denomina en estadística, coeficiente de variación (C. V.).

Salicilato de sodio sintético	Salicilato de sodio natural
$C. V. = \frac{0.035 \times 100}{0.79} = 4.43 \%$	$C. V. = \frac{0.065 \times 100}{0.72} = 9.03 \%$

Una vez calculados los coeficientes de variación, podemos determinar el error standard de la relación de toxicidad, expresado como porcentaje, extrayendo la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de los coeficientes de variación:

$$\sqrt{4.43^2 + 9.03^2} = \pm 10.06 \%$$

Como este porcentaje se refiere a 1,10, calculando el valor absoluto, se obtiene  $\varepsilon = \pm 0,11$ ; luego, la relación de toxicidad puede ser expresada en la forma siguiente:  $1,10 \pm 0,11$ , es decir, que dos veces de tres, la toxicidad relativa del salicilato sintético, con respecto al natural, estará comprendida entre 0,99 y 1,21. La equivalencia de toxicidad (toxicidad relativa = 1,00), queda dentro de estos dos resultados extremos.

Repitiendo los mismos cálculos para los resultados obtenidos con las dosis 0,60, que como son iguales para las dos sales, solamente requieren un cálculo único se obtiene:

$$\sigma = \sqrt{\frac{83 \times 17}{30}} = \pm 6.39$$

El resultado 83, puede ser expresado en la siguiente forma:  $83 \pm 6,39$ ; dos veces de tres, la mortalidad estará comprendida entre 89,39 y 76,61 %. Las abscisas correspondientes son 1,24 y 1,14, de modo que  $\sigma = \pm 0,05$ .

$$C. V. = \frac{0.05 \times 100}{1.19} = 4.20 \%$$

(1,19, es la abscisa correspondiente a la mortalidad 83 %; véase la tabla VIII).

El error standard de la relación de toxicidad para la dosis 0,60 (1,00; véase la Tabla VIII), expresado en porcentaje, es:

$$\sqrt{4.20^2 + 4.20^2} = \pm 5.92 \%$$

Calculado en valor absoluto,  $\varepsilon = \pm 0,06$ ; luego la relación de toxicidad puede ser expresada en la forma siguiente:  $1,00 \pm 0,06$ ,

es decir, que dos veces de tres, la toxicidad relativa del salicilato sintético respecto al natural, estará comprendida entre 0,94 y 1,06.

Como el error standard de la relación de toxicidad es menor con la dosis 0,60 que con la dosis 0,40, consideramos que el resultado obtenido con la primera, es más verídico, cosa que por otra parte confirma el razonamiento efectuado al utilizar el método de TREVAN. Por otra parte, el análisis matemático de los resultados obtenidos con la dosis 0,40, demuestra que la toxicidad relativa 1,00, queda comprendida entre los límites del error standard de la relación de toxicidad (0,99 y 1,21).

Por otra parte, esta conclusión se halla corroborada por la aplicación del cálculo de la diferencia significativa entre dos resultados.

*Diferencia significativa.* — Efectivamente, para determinar si dos resultados difieren significativamente entre sí, o si su diferencia es debida simplemente a variaciones de la sensibilidad de los animales utilizados en ambas determinaciones, se emplea la siguiente fórmula:

fórmula:  $\frac{m_1 - m_2}{\sqrt{\epsilon_1^2 + \epsilon_2^2}}$ , donde  $m_1$  y  $m_2$  son los resultados de cada experiencia (en nuestro caso, las abscisas correspondientes a las mortalidades 10 y 3 % respectivamente, obtenidas con las dosis 0,40);  $\epsilon_1$  y  $\epsilon_2$ , sus respectivos errores standard calculados como se indicó anteriormente. Aplicando la fórmula, tenemos

$$\frac{0.79 - 0.72}{\sqrt{0.035^2 + 0.075^2}} = 0.95.$$

Para que las diferencias entre ambos resultados tengan un significado equivalente a diferencias de toxicidad entre ambas sales, el valor obtenido con la fórmula antes indicada, debe ser igual o superior a 2 (BURN, 1937), aún cuando algunos autores (COWARD, 1938), estiman que dicha cifra debe ser superior a 3.

Vemos pues, que la aplicación de los diversos criterios estadísticos, concuerdan en asignar igual toxicidad a las dos sales estudiadas.

D). — COMPARACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL SALICILATO DE SODIO NATURAL Y DEL SINTÉTICO POR EL MÉTODO DE GADDUM (1933), CALCULANDO LA FÓRMULA DE LA LÍNEA DE REGRESIÓN. — Este autor ha propuesto como método de análisis matemático de los resultados, un procedimiento, basado en la obtención de la llamada línea de regresión (que en los fenómenos biológicos, afecta generalmente la forma de una línea recta), y que puede calcularse matemáticamente o construirse gráficamente. En este último caso, la curva se inscribe en un sistema de coordenadas en el que la abscisa, representa, no la dosis sino el logaritmo correspondiente, y la ordenada, no el

porcentaje de respuesta obtenido experimentalmente sino la desviación equivalente normal (N.E.D.).

La desviación equivalente normal (GADDUM, 1933), no es otra cosa que la transformación de los valores de una curva de frecuencia integrada (que como sabemos es sigmoidea en la mayor parte de los fenómenos biológicos), en los valores de una curva de distribución normal de frecuencia, en la cual la abscisa indica la desviación standard y sus múltiplos y la ordenada, el porcentaje de efecto (en nuestro caso, mortalidad).

Esta curva ha sido calculada teóricamente por GADDUM (1933), quien la inscribió gráficamente bajo la forma de un nomograma que se halla reproducido en el trabajo citado de GADDUM (1933), y en el libro de BURN (1937).

*Cálculo de la línea de regresión.* — GADDUM (1933), dice: « si  $y'_1$ ,  $y'_2$ , etc., son las desviaciones equivalentes normales observadas con dosis expresadas en logaritmos  $x'_1$ ,  $x'_2$ , etc., la fórmula de la línea de regresión correspondiente a estas observaciones es:

$$b = \frac{\bar{y} - \bar{y}}{\bar{x} - \bar{x}}$$

donde  $\bar{x}$  e  $\bar{y}$ , son las medias ponderadas de los valores observados  $x'$  e  $y'$  (es decir  $\frac{S(Bnx')}{S(Bn)}$  y  $\frac{S(Bny')}{S(Bn)}$ ) y donde  $b$ , que indica la inclinación de la línea, es dada por la ecuación:

$$b = \frac{S[Bny'(x' - \bar{x})]}{S[Bn(x' - \bar{x})^2]}$$

Se hace notar que  $n$  es igual al número de animales utilizados con cada dosis (en nuestras experiencias, ha sido siempre 30) y  $S$ , según la notación de GADDUM (1933), equivale a  $\epsilon$  (suma).

Es necesario explicar brevemente el significado del término ponderación. Supongamos que en nuestros resultados experimentales, obtenemos dos porcentajes de respuesta tales como 5 y 45 %. Como ya hemos visto por la forma de la curva característica correspondiente, el incremento del efecto obtenido con ligeros aumentos en la dosis es mucho mayor cuando dichos porcentajes están situados en las proximidades del 50 %; por consiguiente una dosis estimada con el porcentaje del 5 % es mucho menos exacta que la que se obtiene con el porcentaje 45 %; por ello su ponderación debe ser menor. GADDUM (1933), ha calculado en el nomograma antes citado

los valores de ponderación correspondientes a cada porcentaje de respuesta.

Nuestro cálculo está basado en los datos de la Tabla X, que son los correspondientes a la toxicidad del salicilato de sodio sintético que figuran en la Tabla V, donde se compara la toxicidad de ambos salicilatos en el mismo día.

TABLA X

Dosis en mg. por g. de ratón	Log. de la dosis	Mortalidad %	Desviación equivalente normal (N. E. D.)	Ponderación (B)
0.20	$\bar{1}.3010 (x_1')$	0	- 2.80 ( $y_1'$ )	0.00
0.40	$\bar{1}.6021 (x_2')$	10	- 1.28 ( $y_2'$ )	0.34
0.60	$\bar{1}.7782 (x_3')$	83	0.95 ( $y_3'$ )	0.45
0.80	$\bar{1}.9031 (x_4')$	100	2.80 ( $y_4'$ )	0.00
1.00	0.0000 ( $x_5'$ )	100	2.80 ( $y_5'$ )	0.00

Cálculo de  $\bar{y}$ . —: ( $\bar{y}$ , es la media ponderada de los valores observados de la desviación equivalente normal para cada dosis).

$$\begin{array}{rcl}
 Bny_1' = 0.00 \times 30 (-2.80) = & 0.00 & Bn = 0.00 \times 30 = 0.00 \\
 Bny_2' = 0.34 \times 30 (-1.28) = & -13.06 & Bn = 0.34 \times 30 = 10.20 \\
 Bny_3' = 0.45 \times 30 \times 0.95 = & 12.82 & Bn = 0.45 \times 30 \times 13.50 \\
 Bny_4' = 0.00 \times 30 \times 2.80 = & 0.00 & Bn = 0.00 \times 30 = 0.00 \\
 Bny_5' = 0.00 \times 30 \times 2.80 = & 0.00 & Bn = 0.00 \times 30 = 0.00 \\
 \hline
 S(Bny') = & -0.14 & S(Bn) = 23.70
 \end{array}$$

$$\bar{y} = \frac{S(Bny') - 0.14}{S(Bn) 23.70} = -0.0059$$

Cálculo de  $\bar{x}$ . —: ( $\bar{x}$ , es la media ponderada de los logaritmos de las dosis).

$$\begin{array}{rcl}
 Bnx_1' = 0.00 \times 30 \times \bar{1}.3010 = & 0.0000 & \\
 Bnx_2' = 0.34 \times 30 \times \bar{1}.6021 = & \bar{5}.9414 & \\
 Bnx_3' = 0.45 \times 30 \times \bar{1}.7782 = & \bar{3}.0057 & \\
 Bnx_4' = 0.00 \times 30 \times \bar{1}.9031 = & 0.0000 & \\
 Bnx_5' = 0.00 \times 30 \times 0.0000 = & 0.0000 & \\
 \hline
 S(Bnx') = & \bar{8}.9471 &
 \end{array}$$

$$\bar{x} = \frac{S(Bnx')}{S(Bn)} = \frac{\bar{8}.9471}{23.70} = \bar{1}.7024$$

Cálculo de  $b$ . —: ( $b$  indica la inclinación de la línea de regresión).

$$\frac{S [Bny (\bar{x}' - \bar{x})]}{S [Bn (x' - x)^2]} = \frac{[0.00 (\bar{1.3010} - \bar{1.7024})] + [-13.06 (\bar{1.6021} - \bar{1.7024})] + [12.82 (\bar{1.7782} - \bar{1.7024})] + [0.00 (\bar{1.9031} - \bar{1.7024})] + [0.00 (0.0000 - \bar{1.7024})]}{[0.00 (\bar{1.3010} - \bar{1.7024})^2] + [-10.20 (\bar{1.6021} - \bar{1.7024})^2] + [13.50 (\bar{1.7782} - \bar{1.7024})^2] + [0.00 (\bar{1.9031} - \bar{1.7024})^2] + [0.00 (0.0000 - \bar{1.7024})^2]}$$

$$= \frac{1.3102 + 0.9717}{0.1026 + 0.0776} = 12.66$$

$$\text{Pero } b = \frac{y - \bar{y}}{x - \bar{x}} = \frac{y - (-0.0059)}{x - \bar{1.7024}}$$

Ahora podemos calcular:

$$\begin{aligned} y &= b (x - \bar{x}) + \bar{y} \\ y &= bx - bx + \bar{y} \\ y &= 12.66 x + 3.7676 - 0.0059 \\ y &= 12.66 x + 3.7617 \quad [1] \end{aligned}$$

que constituye la fórmula de la línea de regresión para el salicilato de sodio.

*Determinación gráfica de la línea de regresión.* — La fig. 3, ha sido construída tomando como abscisa los logaritmos de las dosis y como ordenadas los valores de las desviaciones equivalentes normales indicados en la Tabla X. Como es lógico no se han considerado los datos cuya ponderación es 0, ya que no tienen significación, pues corresponden a mortalidades 0 y 100 %, puntos en los que la curva característica no permite estimar con precisión la variación de la dosis en función de la mortalidad (Fig. 3).

La inclinación de esta línea, expresa la variabilidad de los animales, ya que cuanto más empinada es, menor es la variación de la sensibilidad individual. La inclinación de esta línea se expresa matemáticamente como la tangente del ángulo formado entre esta línea y el eje de las abscisas, es decir por la relación entre una ordenada cualquiera y su correspondiente abscisa. Generalmente se toma la ordenada que corresponde a la desviación equivalente normal de 1 (GADDUM, 1933) y la abscisa correspondiente  $\lambda$ . Luego, la inclinación de la línea ( $b$ ) es igual a  $1/\lambda$ .

En nuestro caso  $b = 1/0,08 = 12,50$ , valor que concuerda bastante bien con el determinado por cálculo (12,66).

Comparación de la toxicidad de ambos salicilatos mediante el empleo de la fórmula de la línea de regresión. — Conocidos los datos que

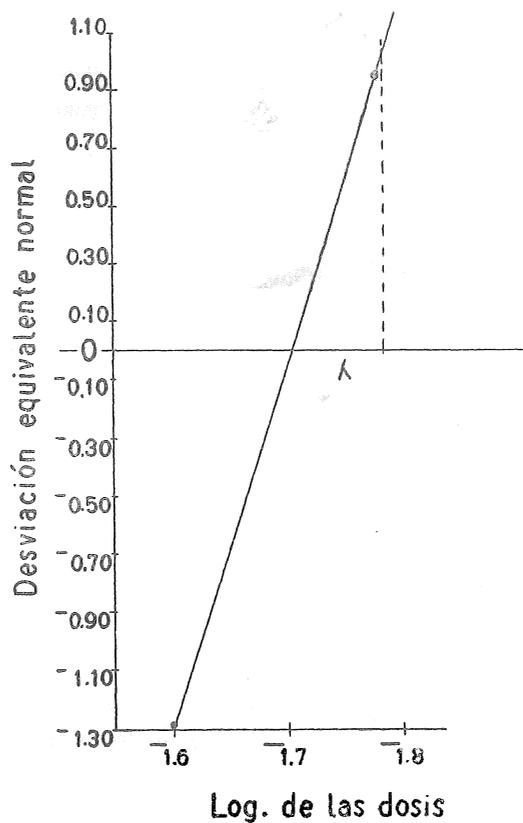


FIG. 3.

figuran en la Tabla XI, obtenidos algunos experimentalmente y los otros consultando el nomograma de GADDUM (1933), podemos establecer la comparación entre la toxicidad de ambos salicilatos.

TABLA XI

Dosis en mg. por g. de ratón	Mortalidad %		Desviación equivalente normal ( $y$ )		Ponderación ( $B$ )	
	Sintét.	Natur.	Sintet.	Natur.	Sintét.	Natur.
0.40	10	3	-1.28	-1.87	0.34	0.15
0.60	83	83	0.95	0.95	0.45	0.45

1º — Para la dosis 0,40 mg por g de ratón.

Aplicando la fórmula de la línea de regresión para el salicilato de sodio [1], tenemos para el salicilato sintético:

$$-1.28 = 12.66 x + 3.76$$

$$x = \frac{-1.28 - 3.76}{12.66} = -0.3902$$

Para el salicilato de sodio natural:

$$-1.87 = 12.66 x + 3.76$$

$$x = \frac{-1.87 - 3.76}{12.66} = -0.4447$$

La diferencia entre estos dos valores de  $x$  es 0,0545. Este resultado es el logaritmo de la relación de toxicidades obtenidas con las dosis 0,40 del salicilato de sodio sintético con respecto al natural. Por lo tanto:

$$\text{Toxicidad sintético/Natural} = \text{antilog. } 0.0545 = 1.13$$

Como vemos, el valor obtenido 1,13, concuerda bastante bien con el calculado con el método de BURN (1,10).

2º — Para la dosis 0,60 mg por g.

Procediendo en la misma forma, empleamos aquí un cálculo único, ya que los valores que se deben reemplazar en la fórmula de la línea de regresión, son exactamente iguales en los dos casos.

$$0.95 = 12.66 x + 3.76$$

$$= \frac{0.95 - 3.76}{12.66} = -0.2219$$

La diferencia entre los valores de  $x$  correspondientes al salicilato de sodio natural y sintético respectivamente es 0,0000 y el antilogaritmo de este número es 1,0; por lo tanto:

$$\text{Toxicidad sintético/Natural} = 1.00$$

*Cálculo del error standard.*— El error standard de esta relación de toxicidad está dado por la siguiente fórmula:

$$\lambda^2_M = \lambda^2 \left( \frac{1}{B_1 n_1} + \frac{1}{B_2 n_2} \right),$$

en la que  $\lambda_M$  es la desviación standard del logaritmo de la relación de toxicidad,  $\lambda$  igual  $1/b$ ,  $B$  igual a ponderación y  $n$  igual a número de animales.

1º — Para la dosis 0,40 mg por g de ratón.

$$\lambda = 1/b = 1/12.66 = 0.0789 \text{ (0.08 en números redondos)}$$

$$\lambda^2_M = \frac{0.08^2}{30} \left( \frac{1}{-0.15} + \frac{1}{0.34} \right) = 0.001982$$

luego:

$$\lambda_M = \pm 0.0445.$$

el antilogaritmo de  $+0,0445$  es 1,11 y el antilogaritmo de  $-0,0445$  ( $=\bar{1}.9555$ ) es 0,90; esto significa que dos veces de tres, la relación de toxicidad entre ambos salicilatos estará comprendida entre 90 y 111 % del resultado obtenido. Por consiguiente, los límites de error del resultado 1,13 (que indica la relación de toxicidad para la dosis 0,40 de ambos salicilatos), serán 1,02 y 1,25. El error standard de la relación 1,13 es  $\pm 0,115$ .

Con el método de BURN (pág. 14), el error standard, para estas dosis dió  $\pm 0,11$ .

La equivalencia de toxicidad (relación de toxicidad = 1,00) queda casi comprendida dentro de los límites del error standard.

2º — Para la dosis 0,60 mg por g de ratón:

$$\lambda^2_M = \frac{0.08^2}{30} \left( \frac{1}{0.45} + \frac{1}{0.45} \right) = 0.00094657$$

$$\lambda_M = \pm 0.0307$$

El antilogaritmo de  $+0,0307$  es 1,07 y el antilogaritmo de  $-0,0307$  ( $=\bar{1}.9693$ ) es 0,93. Esto significa que dos veces de tres la relación de toxicidad entre ambos salicilatos estará comprendida entre 93 y 107 % del resultado obtenido; por consiguiente los límites de error del resultado 1,00 (relación de toxicidad para la dosis 0,60) serán 0,93 y 1,07.

El error standard de la relación 1,00, es pues  $\pm 0,07$ , cifra que concuerda bastante bien con la obtenida mediante el método de BURN ( $\pm 0,06$ ).

Aquí también aplicamos el criterio sustentado al efectuar los cálculos según el método de BURN: siendo el error standard del resultado 1,00, menor que el del resultado 1,13, consideramos más verídico el primero; además aquí tenemos el cálculo de la ponderación (véase la Tabla XI), que nos indica que el resultado obtenido con la dosis 0,60 tiene mayor verosimilitud. Todo esto demuestra que la toxicidad relativa es 1,00 (equivalencia de toxicidad de ambos salicilatos), es decir que no existe diferencia de toxicidad entre ambas sales.

E). — COMPARACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL SALICIDATO DE SODIO NATURAL Y DEL SINTÉTICO POR EL MÉTODO DE GADDUM (1933), SIN EL EMPLEO DE CURVAS. — GADDUM (1933) propuso otro método de cálculo en el que prescinde de la construcción o del cálculo de una curva, ya sea característica o la línea de regresión. El método requiere efectuar dos ensayos con dos dosis diferentes para cada sal, una capaz de producir un efecto superior al 50 %, y la otra, menor del 50 %; como es lógico, ambos ensayos deben ser realizados en el mismo día para evitar las diferencias de sensibilidad de los animales, que como ya sabemos varía de día en día.

Los datos obtenidos en nuestro caso figuran en la Tabla XII.

TABLA XII

Sal utilizada	Dosis en mg. por g. de ratón	Log. de la dosis	Mortalidad %	Desviación equivalente normal	Ponderación (B)
Sintético . . . . .	0.40	$\overline{1.6021}$	10	$-1.28 (y_1'')$	0.34
Sintético . . . . .	0.60	$\overline{1.7782}$	83	$0.95 (y_2'')$	0.45
Natural . . . . .	0.40	$\overline{1.6021}$	3	$-1.87 (y_1')$	0.15
Natural . . . . .	0.60	$\overline{1.7782}$	83	$0.95 (y_2')$	0.45

Para efectuar este cálculo, debemos conocer los siguientes valores:

$d = \log$  de la relación de las dos dosis:

$$d = \log. \frac{0.60}{0.40} = \log. 1.50 = 0.1761$$

$b$  = inclinación de la línea de regresión, valor que se obtiene aplicando la siguiente fórmula:

$$b = \frac{(y_2' + y_2'') - (y_1' + y_1'')}{2d} = \frac{(0.95 + 0.95) - (-1.87 - 1.28)}{2 \times 0.1761} = 14.34$$

Ahora debemos calcular  $M = \log.$  de la relación de toxicidad de ambas sales:

$$\begin{aligned} M &= \log. \frac{\text{toxicidad sintético}}{\text{toxicidad natural}} = \frac{(y_1'' + y_2'') - (y_1' + y_2')}{2b} \\ &= \frac{(-1.28 + 0.95) - (-1.87 + 0.95)}{2 \times 14.34} = 0.02057 \end{aligned}$$

Luego, toxicidad sint/nat. = 1,05.

*Error standard.* — El error standard de este resultado se puede calcular aplicando la siguiente fórmula:

$$\lambda^2_M = \frac{1}{Bnb^2} \left( 1 + \frac{M^2}{d^2} \right),$$

donde  $B$  es el promedio de todas las ponderaciones (Tabla XII). En nuestro caso  $B = 0,348$ .

$$\begin{aligned} \lambda^2_M &= \frac{1}{0.348 \times 30 \times 14.34^2} \left( 1 + \frac{0.02057^2}{0.1761^2} \right) \\ &= \frac{2146.835664}{1.0136} = 0.00047213 \end{aligned}$$

$$\lambda_M = \pm 0.0217$$

El antilogaritmo de  $+0,0217$  es 1,05 y el antilogaritmo de  $-0,0217$  ( $\bar{1}.9783$ ) es 0,95. Por consiguiente, dos veces de tres, los límites de error de la relación hallada (1,00), estarán comprendidos entre 95 y 105 %, es decir entre 0,99 y 1,10. El error standard de la relación 1,05 es pues  $\pm 0,055$ .

La toxicidad relativa 1,00 (equivalencia de toxicidad de ambas sales) queda comprendida entre los límites del error standard.

La ponderación, es decir la objetivación del valor de la determinación, se obtiene aplicando la fórmula  $1/\lambda^2_M$ ; en nuestro caso es  $1/0,00047 = 2127,6$ , que es un valor muy bueno.

*Método gráfico.* — Este mismo método puede realizarse gráficamente, lo que permite obviar una serie de cálculos complicados. En este caso, el objeto es el de obtener la dosis mortal 50 (DL 50).

Para ello, se inscribe en el eje de abscisas los logaritmos de las dos dosis empleadas y en el eje de ordenadas, las desviaciones equivalentes normales correspondientes a los porcentajes de mortalidad. Con los datos de la Tabla XII, se ha construido la curva de la

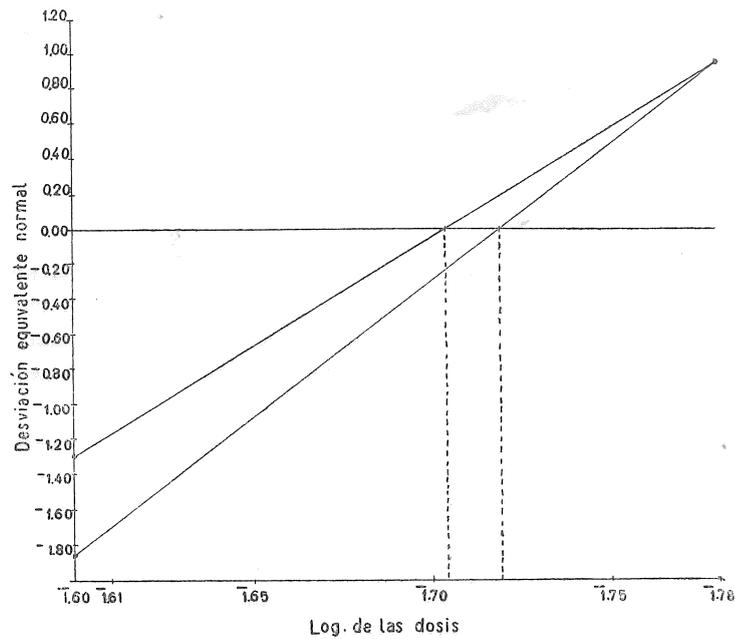


FIG. 4.

fig. 4. Se traza una línea recta que une los puntos correlativos de una misma sustancia y se determinan los logaritmos de las dosis en que dichas líneas cortan la abscisa correspondiente a la ordenada 0. Esos logaritmos corresponden a los logaritmos de las dosis mortales 50.

En nuestro caso, la dosis mortal 50 del salicilato de sodio sintético es igual a  $\text{antilog } \bar{1}.704 = 0,506$  y la del natural,  $\text{antilog } \bar{1}.719 = 0,524$ .

Ahora bien, la relación de DL 50 nat/sint. (que es inversamente proporcional a la toxicidad relativa) es igual a  $0,524/0,506 = 1,04$ . Vemos una vez más que prácticamente no existe diferencia entre ambas sales, en lo que respecta a su toxicidad.

F). — RESUMEN. — Los resultados obtenidos con los diversos métodos de cálculo, están consignados en la Tabla XIII.

TABLA XIII

Dosis mg. por g.	Método de Trevan (1927)	Método de Burn (1937)	Método de Gaddum (1933) Línea de regresión	Método de Gaddum (1933), sin el empleo de curva previa	
				Por cálculo	Gráficamente
	Relac. DL 50 Nat./sint.	Relación de toxic. sint/nat.	Relación de toxic. sint/nat.	Relación toxic. sint./nat.	Relación DL 50 Nat./sint.
0.40	1.10	1.10 ± 0.11	1.13 ± 0.115	1.05 ± 0.055	1.04
0.60	1.00	1.00 ± 0.06	1.00 ± 0.07		

## DISCUSIÓN

Como permite comprobar un examen rápido de las cifras anteriores, todos los métodos utilizados para comparar los resultados experimentales, concuerdan con bastante precisión en el sentido de asignar una toxicidad equivalente a ambas sales, cualquiera sea la dosis utilizada para efectuar la comparación.

Efectivamente, aún en el caso correspondiente a la estimación de la relación de las dosis letales 50 % por el método de TREVAN (1927), vemos que la diferencia de toxicidad relativa, que equivale a + 10 %, para el salicilato sintético, corresponde a porcentajes de mortalidad que analizados por el método de BURN (1937), estimando la significación de dicha diferencia, no implica más que lo que corresponde al error de muestra (*error of sampling*), ya que el cálculo estadístico exige que la aplicación de los resultados experimentales a la fórmula correspondiente, dé un valor igual o superior a 2; en nuestros experimentos, esta cifra es igual a 0,95.

La aplicación del método de BURN (1937), nos ha permitido obtener una curva experimental, en la cual si bien es cierto, gran cantidad de puntos han correspondido a los extremos de la curva (0 y 100 % respectivamente), hay 11 datos escalonados, obtenidos por la combinación de los experimentos practicados en los 6 días. Como era de esperar, la forma sigmoidea de la misma confirma las aseveraciones de TREVAN (1927). Es por la acumulación de los datos obtenidos en diversos días y al mayor número de animales computados en el cálculo, que le asignamos mayor valor al método de BURN (1937).

Aplicando el método de GADDUM (1933), calculando la fórmula de la línea de regresión, los resultados obtenidos con las dosis 0,40

y 0,60, tienen en ambos casos una desviación standard (que establece los límites entre los cuales debe considerarse la toxicidad relativa de ambas sales), situada muy cerca de la cifra que corresponde a igual toxicidad. Más aún, en nuestro caso, ambas cifras corresponden a una probabilidad ( $P = 0,66$ ), que no es la que habitualmente se utiliza en los cálculos estadísticos de los métodos biológicos, ya que en general se debe utilizar  $P = 0,99$  (ADDENDUM, 1936, a la Farmacopea Británica, 1932). Para obtener esta última probabilidad, es necesario multiplicar la desviación standard por 2,576, y en este caso podemos holgadamente considerar como desprovistas de significación, las diferencias halladas. Iguales consideraciones caben para los resultados correspondientes al método de BURN (1937).

Con el método de GADDUM (1933) sin el empleo de una curva predeterminada, se realiza un cálculo que combina los resultados obtenidos con dos dosis distintas para cada sal. El resultado es por consiguiente una cifra única, cuyos límites establecidos por la desviación standard, corresponden a los obtenidos con los otros métodos, siendo la relación entre la toxicidad casi igual a 1,00. Con el método gráfico, se llega al mismo resultado.

Conviene hacer notar que los dos métodos de GADDUM (1933), (el del cálculo de la línea de regresión y el del cálculo de la relación de toxicidad sin el empleo de curvas), exigen una serie de operaciones complejas y largas que se pueden evitar, aplicando directamente el método gráfico de GADDUM (1933), (pág. 23), que es sumamente sencillo y rápido. Naturalmente, no podemos aconsejar que se aplique sistemáticamente este procedimiento porque todas las deducciones sobre las cuales está basado, parten de una suposición que podría no ser cierta, y que es, que todas las sustancias sin excepción, tienen una curva gráfica de dosis-efecto, de igual forma. Aún cuando GADDUM (1933), ha demostrado que esto ocurre con distintas sustancias, sus resultados exigen una amplia confirmación, antes de generalizar sus conclusiones.

#### RESUMEN Y CONCLUSIONES

1º — Se ha efectuado la determinación de la toxicidad relativa del salicilato de sodio extractivo en comparación con el sintético, en ratones blancos, empleando en total 1.120 animales.

2º — Para efectuar la comparación de la toxicidad se utilizaron distintos procedimientos estadísticos de cálculo.

3º — Se ha establecido la curva característica de mortalidad del salicilato de sodio para los ratones blancos.

4º — No se ha encontrado diferencias de toxicidad entre ambas sales.

## BIBLIOGRAFIA

1. *Addendum 1936 to the British Pharmacopoeia 1932. The General Medical Council, London.*
2. BARTHOLOW, P. and Mc NEIL, A. 1917. *Am. J. M. Sc.*, 153, 738.
3. *British Pharmacopoeia 1932. The General Medical Council, London.*
4. BURN, J. H. 1937. *Biological Standardization.* Oxford University Press, London.
5. COWARD, K. H. 1938. *The Biological Standardisation of the Vitamins,* Baillière, Tindall and Cox, London.
6. DANIELS, F. 1934. *Preparación matemática para la química física.* Trad. cast. Editorial Labor, S. A., Barcelona.
7. DELPHAUT, J. 1936. *Compt. Rend. Soc. de Biol.*, 121, 1012.
8. EDMUNDS, C. W. and GUNN, J. A. 1936. *Cushny's Text-book of Pharmacology and Therapeutics*, 11 th. Ed. J. and A. Churchill Ltd., London.
9. GADDUM, J. H. 1933. *Reports on Biological Standards. III. Methods of Biological Assay Depending on a Quantal Response.* Medical Research Council. Special Report Series N° 183. His Majesty's Stationary Office, London.
10. GINI, C. 1935. *Curso de Estadística.* Trad. cast. Edit. Labor, S. A., Barcelona.
11. GRAY, W. H., TREVAN, J. W., BAINBRIDGE, H. W., and ATTWOOD, A. P. 1931. *Proc. Roy. Soc. Series B.*, 108, 54.
12. HANZLIK, P. J. 1926. *Medicine*, 5, 197.
13. JOHNSON, C. C. and HANZLIK, D. J. 1929. *J. Pharmacol. and Exper. Therap.*, 36, 319.
14. POYNTON, F. J. and SCHLESINGER, B. 1937. *Recent Advances in the Study of Rheumatism*, 2 nd. Ed. J. and A. Churchill, London.
15. RÉGNIER, J., LAMBIN, S. et SZOLLOZI, E. 1937, *J. de Physiol. et Path. Gén.*, 35, 329, 348, 709, 721, 950.
16. SHACKELL, L. F., WILLIAMSON, W., DEITCHMAN, M. M., KATZMAN, G. N. and KLEINMAN, B. S. 1924, *J. Pharmacol. and Exper. Therap.*, 24, 53.
17. SOLLMAN, T. 1936. *A Manual of Pharmacology*, 5 th. Ed. W. B. Saunders Co, Philadelphia and London.
18. TREVAN, J. W. 1927. *Proc. Roy. Soc. Series B.*, 101, 483.
19. TORINO, A., LITTER, M. y LITTER, D. K. DE. 1940. *Sem. Med.*, 11.
20. WADELL, J. A. 1911. *Arch. Int. Med.*, 8, 784.
21. WINTER, J. E. and BARBOUR, H. G. 1928. *Proc. Soc. Exper. Biol., and Med.*, 25, 587.