

Conocimientos actuales sobre el Cloromicetín

HISTORIA

La época de los antibióticos, inaugurada por la penicilina, estimuló ampliamente la investigación para hallar nuevos miembros de esta flamante familia de fármacos que fueran activos contra los gérmenes que se habían mostrado resistentes a los elementos terapéuticos hasta ahora disponibles. Sin duda alguna, la realización más importante en este campo ha sido el hallazgo del Cloromicetín (Chloromycetin), pues por primera vez en la historia de los antibióticos, y en un tiempo record, se han logrado salvar todas las etapas de lo que se considera como el desideratum de investigación en este campo: hallazgo de una bacteria productora de un antibiótico, identificación de este antibiótico, pruebas de su utilidad clínica, demostración de su estructura química, síntesis química completa.

Los primeros trabajos se realizaron en la Universidad de Yale donde Burkholder aisló y seleccionó varios miles de cultivos de numerosas muestras de tierra recibidas de distintas partes del mundo. De entre los muchos con actividad antibiótica, Ehrlich y colaboradores, seleccionaron varios cultivos para efectuar una amplia investigación. Uno de ellos era un *Streptomyces* que había sido aislado de una muestra de tierra recogida en un campo recubierto de estiércol y paja en Venezuela. La substancia antibiótica fué aislada en los laboratorios de Parke & Davis, e inmediatamente se halló otro cultivo de tierra que producía el

antibiótico. Para el microorganismo se propuso el nombre de *Streptomyces venezuelae*.

Los primeros ensayos llevados a cabo por los bacteriólogos demostraron que el espectro bacteriano del antibiótico, era enorme y entre los gérmenes susceptibles se encontraban las rickettsias. Poco después Q. R. Batz aislaba en forma pura de los medios de cultivo el compuesto activo, y los primeros análisis mostraron que encerraba un alto porcentaje de cloro, lo cual unido al nombre de la bacteria productora, hizo surgir el nombre de Cloromicetín (o Cloromicetina) para el antibiótico. Para ese entonces las pruebas de laboratorio habían evidenciado que el cloromicetín era altamente activo contra los gérmenes del tifus exantemático, la tos convulsa, pneumonía por Friedlander, tifoidea, fiebre ondulante, bacilos disenteriformes, etc.

La aplicación de los conocimientos adquiridos experimentalmente, en individuos humanos fué realizada por Smadel quien demostró que el producto se podía administrar por vía oral al adulto normal (Smadel usó médicos voluntarios) sin que se presentaran reacciones adversas, y era bien absorbido por el organismo. Ante estas comprobaciones se decidió ensayar el Cloromicetín clínicamente, lo cual fué factible por gentileza del gobierno de Bolivia, país en el cual se había declarado a fines de 1947 una epidemia de tifus exantemático. Fué Payne quien llevó a cabo la experiencia en Bolivia, al mismo tiempo que los hacía Sma-

del en México sobre la misma enfermedad. El éxito de ambas experiencias alentó a los investigadores y el ejército norteamericano ensayó el antibiótico contra la fiebre fluvi-al japonesa, en la península de Malaca, donde esta afección rickettsial es endémica. Es asimismo en Malaca, en Kuala Lumpur, donde por primera vez se comprueba clínicamente la gran efectividad del Cloromicetín contra la tifoidea, enfermedad que había hasta entonces resistido toda quimioterapia.

Los estudios posteriores demostraron que la utilidad del antibiótico se extendía a una serie muy grande de enfermedades infecciosas: fiebres entéricas, disenterías, afecciones urinarias por bacilos y cocos, colitis ulcerativa, neumonía bacteriana, tos convulsa, enfermedades venéreas (blenorragia, chancro blando, sífilis), enfermedades a virus (tifus exantemático, fiebre de las Montañas Rocallosas, etc.), sarampión, parotiditis ("paperas") etc.

Al mismo tiempo se trabajaba desde el punto de vista químico con el antibiótico: el grupo de Bartz aisló el producto, y pronto se determinó su estructura química; la determinación de su estructura fué seguida casi de inmediato por la preparación sintética por tres métodos diferentes. En la actualidad el producto se prepara por fermentación y por vía química.

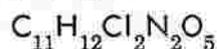
PREPARACION DEL CLOROMICETIN. PROPIEDADES.

A) Por fermentación.

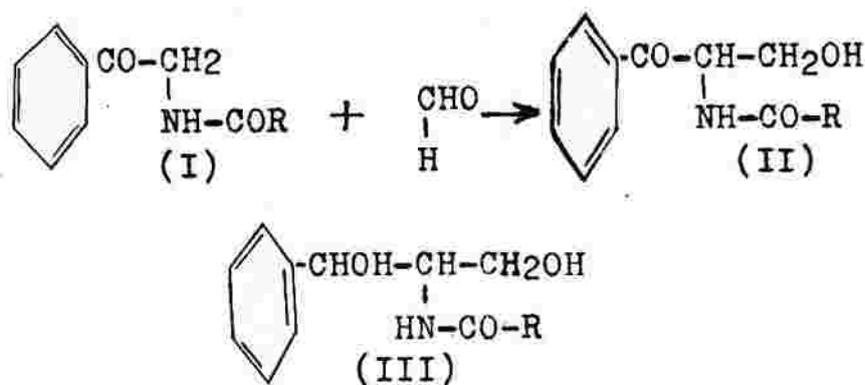
Se utiliza como organismo productor el *Streptomyces venezuelae*, especie A-65, la cual se cultiva en un medio de cultivo sumergido, con aireación compuesto de glicerina, hidrolizados de proteínas de carne, usándose melasa de maíz como material glucídico suplementario. Una vez que el ensayo (ver determinación más adelante) muestra que la concentración de cloromicetín es adecuada en el cultivo, se sifona

el líquido de los tanques de fermentación, se ajusta el pH a 2 y se extrae el antibiótico bruto con $\frac{1}{4}$ de vol. de acetato de etilo. Se seca con sulfato Na la solución, se filtra y se elimina el solvente al vacío. El residuo se toma por una pequeña cantidad de éter, se ajusta su pH a 4.7 y se adsorbe sobre alúmina de Brockman, haciéndose la elución con éter. El eluado etéreo se evapora a sequedad, el residuo se toma con agua, y la solución acuosa se priva de impurezas por agitación con éter de petróleo, se decanta el éter de petróleo, y la solución acuosa de cloromicetina se evapora en el vacío a pequeño volumen, con lo cual se produce la cristalización del antibiótico. Se somete luego a purificación por disolución en diversos solventes hasta que se obtiene un producto cristalino blanco.

Propiedades. — Tiene un punto de fusión claro $=150^{\circ}1$; cristaliza en agujas (de agua) y tiene un poder rotatorio de $-25^{\circ}5$ en acetato de etilo y de $+19^{\circ}$ en alcohol etílico. Es poco soluble en el agua (2½%), más soluble en propileglicol (15%), muy soluble en alcoholes alifáticos, acetona y acetato de etilo. Se disuelve en NaOH al 5% pero es rápidamente inactivado. Sublima en el vacío sin descomponerse. El análisis elemental demostró que posee la siguiente fórmula estructural:



Desde el principio llamó la atención el alto porcentaje de cloro (21%) que fué lo que dió el nombre al antibiótico. También se notó que el espectro de absorción en el ultravioleta presentaba un máximo de absorción muy semejante al nitrobenzono, lo cual sugería una estructura nitrobenzénica en la molécula. Esta suposición se aceptó con muchas reservas ya que hasta entonces no se conocían productos naturales que contuvieran un grupo nitro. Sin embargo las pruebas funcionales confirmaron la presencia del grupo nitro. La descripción detallada de la demostración de la estructura sería fatigosa para el lector, al cual envia-



FARMACOLOGIA

Ley y colaboradores administraron Cloromicetín por vía oral a tres médicos sanos, voluntarios, con el fin de obtener datos preliminares sobre tolerancia, excreción y concentración sanguínea después de varias dosis.

Se hicieron regularmente determinaciones de cloromicetín en sangre y orina. Se determinó la hemoglobina, fórmula leucocitaria y recuentos de glóbulos. Aunque las dosis orales fueron de 1 gramo diario durante 10 días no se notaron efectos tóxicos ningunos en los sujetos. La concentración máxima en la sangre se presentó a las dos horas de iniciada la ingestión. La concentración que se ha hallado de este antibiótico en distintos líquidos del organismo tiene varios aspectos importantes en la participación de su acción terapéutica. Bajo una dosis corriente (50-75 mg. por kilo) se ha hallado una concentración de 3 a 10 gamas en la bilis.

También se le halla en el cordón umbilical después de la administración a la parturienta, lo cual indica que pasa la barrera placentaria. También se le halla en el líquido céfalo-raquídeo después de la administración a la dosis mencionada.

En los animales no se ha evidenciado toxicidad del antibiótico dado ya sea por vía oral o parenteral. No hay modificaciones en el recuento globular, fórmula leucocitaria, nitrógeno sanguíneo, glicemia, pruebas

funcionales hepáticas, orina (pH, ausencia de albúmina y glucosa), ni tampoco se observaron síntomas nerviosos o modificaciones de comportamiento atribuibles a la terapia. De estos estudios se evidencia que el Cloromicetín se excreta e inactiva rápidamente en el organismo animal. En el ser humano sometido a terapia antibiótica intensa pueden aparecer con altas dosis reacciones colaterales, tales como cefalea, reacciones cutáneas o gastrointestinales, etc., pero en general estos fenómenos son raros.

Administración. — Dado que las experiencias han demostrado que alcanza altas concentraciones sanguíneas una vez que se ha suministrado por vía oral, el Cloromicetín se administra exclusivamente por vía bucal, aunque en los niños y lactantes se puede emplear la vía rectal. La absorción es inmediata, por lo que la acción terapéutica es sumamente rápida. No es inactivado ni por las sulfamidas, ni por el PABA ni tampoco por la penicilina ni estreptomocina.

La dosis recomendada es de 50 mg. por kilo de peso del enfermo y por día administrado en dosis fraccionadas durante varios días. Cuando se normaliza la temperatura y comienza la convalecencia, generalmente es suficiente una dosis de 25 mg. por kilo de peso y por día. Aunque los criterios posológicos lógicamente varían con las enfermedades alrededor de la cifra citada, lo fundamental a recordar es que los intervalos entre las dosis nunca deben ser

mayores de 8 horas, a fin de evitar una disminución de Cloromicetín en la sangre por debajo de la concentración mínima eficaz (10 gamas por ml de suero). En los niños se pueden perforar las cápsulas e introducir las en el recto, o bien utilizar un vehículo como la miel, los jarabes, etc., para disimular el sabor tan desagradable del Cloromicetín. Se les puede dar en supositorios de base hidrosoluble (glicogelatina). Esta vía también es la que hay que emplear en los enfermos muy graves, adultos; la única precaución es perforar las cápsulas (se presenta en cápsulas de 0.25 g) en varios puntos e introducir las en el recto; no afecta la mucosa rectal.

INDICACIONES DEL CLOROMICETÍN

a) **afecciones entéricas.**

La fiebre tifoidea, las paratifoideas y otras salmonelosis son producidas por bacterias gram negativas que son muy susceptibles a la acción antibiótica del Cloromicetín. Durante la fase aguda de la enfermedad la dosis diaria será de 60 mg por kilo de peso y por día, administradas a intervalos de 4 horas hasta que se haya normalizado la temperatura, lo cual ocurre generalmente a los 2½ días. Aunque el porcentaje de recaídas (coporcultivo positivo) es insignificante, se recomienda seguir con el antibiótico, a razón esta vez de 3 g. diarios durante 10 días después que se haya normalizado la temperatura. Después de normalizada la temperatura y dominada la infección, se atenderá en la convalecencia a la cura de las lesiones intestinales producidas por la salmonella, y a la toxemia sufrida por el aparato cardiovascular. En el caso de portadores la posología debe ser más alta, 100 a 150 mg por kilo y por día.

b) **Infecciones urinarias por bacilos y cocos.**

Las infecciones urinarias son producidas a veces por un solo germen, pero a menudo también son infecciones asociadas, es de-

cir que actúan numerosos gérmenes patógenos simultáneamente. La dosis en este caso es de 2 a 3 gramos por día por vía oral. La duración del tratamiento depende de la bacteria o las bacterias infectantes, el cloromicetín se ha revelado que actúa en estos casos sobre el bacilo coli, *A. aerogenes*, *Pseudomona aeruginosa*, *K. pneumonia*, *Salmonella schottmuelleri* y *Proteus vulgaris*. No es activo contra la tuberculosis renal.

c) **Afecciones a virus.**

Es activo como se dijo contra rickettsias varias, incluyendo el productor de la fiebre de las montañas Rocallosas, f. fluvial japonesa (enfermedad de Tsutsugamushi), endémica en numerosas regiones del Sudeste de Asia y contra el tifus exantemático.

d) **Brucelosis.**

Pacientes con infecciones agudas causadas por *Brucella abortus*, *B. melitensis* y *B. suis* confirmados por hemocultivos, han sido tratados exitosamente con Cloromicetín.

e) **Otras afecciones.**

Mencionaremos además como entidades en que este antibiótico se ha mostrado efectivo, la colitis ulcerativa, en donde ejerce su acción antibiótica sobre los gérmenes del colon, incluyendo los estreptococos. También las penumonias tanto por *D. pneumonia* como por *klebsiella pneumonia*, también en la pneumonía primaria atípica y recientemente en la tos convulsa afección hasta ahora sin cura específica.

f) **Afecciones venéreas.**

Capítulo aparte merece el cloromicetín en las afecciones venéreas; en blenorragia, la dosis de 60 mg por kilo de peso y por día, durante 3-4 días es curativa de un altísimo porcentaje.

En linfogranuloma, una posología masiva de 9 gramos diarios durante 14 días ha

inducido la curación clínica. En sífilis los primeros resultados son extraordinarios: las lesiones de la sífilis primaria comienzan a sanar a las 24 horas de comenzada la terapia con cloromicetín. Con todo es aún muy pronto para adelantar su real valor en esta enfermedad, en que se necesitan años para asegurar el valor terapéutico de una nueva medicación.

DETERMINACION DE LA CLOROMICETINEMIA

La determinación de la concentración del cloromicetín en sangre y líquido céfalo-raquídeo se puede hacer químicamente. En orina no es practicable pues la presencia de grandes cantidades de productos de degradación del antibiótico entorpecen la determinación. Sin embargo puede usarse para determinar la cantidad total (activa más inactiva) excretada en la orina. Las aminas aromáticas como las sulfamidas entorpecen la reacción y no deben estar presentes.

Esta determinación química está basada en la reducción con zinc metálico, seguido por diazotación y copulación con el reactivo de Bratton-Marshall. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de Cloromicetín, y se puede medir colorimétricamente, ya sea con colorímetro o por comparación visual con un juego de patrones.

Reactivos: Polvo de zinc; HCl soluciones 0.1 N y 1 N; nitrito Na solución acuosa reciente al 0.1 %; sulfamato de amonio en solución acuosa al 0.5 %.

Reactivo copulador de Bratton-Marshall: sol al 0.1 % de clorhidrato de N-(1-naftil) etilendiamina (este producto lo prepara la E. Kodak).

Solución al 20 % de ácido p-toluenosulfónico (Kodak).

Preparación de las Muestras:

Las soluciones acuosas de Chloromycetin son diluidas lo necesario para contener menos de 40 microgramos de Chloromycetin por cc. Las muestras de plasma, suero o líquido céfalo-raquídeo se desproteinizan diluyendo 1 cc. con 15 cc. de agua y agregando lentamente 4 cc. de la solución de ácido para-toluenosulfónico al 20 por ciento, con agitación. Después de unos minutos de reposo, se filtran las mezclas con papel fino, como el Whatman N.º 50, y los filtrados se usan para el análisis. Con sangre total y glóbulos rojos, 1 cc. de sangre debe diluirse con 31 cc. de agua y precipitarse por la adición de 8 cc. de A.P.T.S. al 20 por ciento, dando una dilución final de 1:40.

Procedimiento:

- (1) Se ponen 3 cc. de muestra en cada uno de dos tubos de 15 x 125 mm. (A y B, graduados en 5 cc. y conteniendo 2 cc. de ácido clorhídrico 1N cada uno. Al mismo tiempo se preparan dos tubos de control (C y D), con 3 cc. de agua y 2 cc. de ácido clorhídrico 1N cada uno. Por supuesto que estos tubos de control pueden usarse con toda una serie de desconocidos.
- (2) A los tubos A y C se agregan aproximadamente 50 mg. de polvo de cinc.
- (3) Todos los tubos se colocan en un baño de vapor o de agua hirviendo y se calientan durante 60 minutos exactamente. Después de enfriarlos rápidamente a la temperatura ambiente se ajustan los volúmenes hasta la marca de 5 cc. con agua, y los contenidos se mezclan vigorosamente.
- (4) Una vez que el cinc se ha depositado, se pasa 1 cc. del líquido sobrenadante claro a las cubetas ópticas (A, B, C y D) que contienen 4 cc. de ácido clorhídrico 0.1N cada una. Cuando se encuentran concentraciones bajas de

Chloromycetin, como en los filtrados sanguíneos, se pueden usar 4 cc. de solución reducida y 1 cc. de ácido clorhídrico 0.5N, para el análisis.

- (5) A cada cubeta se agregan 0.5 cc. de reactivo de nitrito y se mezclan perfectamente.
- (6) Después de 5 minutos exactamente se agregan 0.5 cc. del reactivo de sulfato y se mezclan.
- (7) Después de un reposo adicional de 3 minutos se agregan 0.5 cc. del reactivo copulador de Bratton-Marshall y el contenido de los tubos se agita vigorosamente.
- (8) Los tubos son colocados en baño de agua o incubadora a 38° C durante una hora, al cabo de la cual se retiran y se secan. Los tubos deben protegerse de la luz intensa.
- (9) Las lecturas se hacen en el colorímetro

a 555 m μ , usando los tubos de control apropiados para ajustar el aparato al 100 por ciento de la transmisión (por ejemplo, el tubo C como control para las lecturas del tubo A, y el tubo D para las lecturas del tubo B.

Preparación de los Patrones:

Se prepara una solución madre de Chloromycetin (patrón A) pesando 40 miligramos de material cristalizado puro en una balanza analítica, y disolviéndolos en 100 cc. exactamente de agua destilada. Antes de usarlo, el patrón A se diluye 1:10 pasando 10 cc. a un matraz volumétrico de 100 cc. y agregando agua destilada hasta la marca (patrón B-microgramos de Chloromycetin por cc.). Las siguientes mezclas se preparan en tubos de 15 x 125 mm. graduados en 5 cc.:

Tubo No.	Patrón B (cc.)	Agua destilada (cc.)	Acido Clorhídrico 1 N (cc.)	Concentración de Chloromycetin* (microgramos/cc.)
1	3	0	2	40
2	2	1	2	26.7
3	1	2	2	13.3
4	0.5	2.5	2	6.7
5	0	3	2	0

*Las concentraciones están expresadas en microgramos de equivalentes de Chloromycetin por cc. de muestra, donde se han tomado 3 cc. para el análisis. Debe hacerse la corrección para la dilución preliminar.

Aproximadamente 50 mg. de polvo de cinc se agregan a cada tubo, y la reducción y desarrollo del color se efectúan como se describió previamente. Las medidas del color se hacen a 555 m μ , usando como control el tubo N.º 5. Al anotar el logaritmo del por ciento de transmisión o densidad óptica

con relación a la concentración de Chloromycetin debe resultar una línea recta.

Para el análisis de plasma o suero debe emplearse un juego de patrones a los que se agrega el Chloromycetin antes de la desproteinización. Se prepara un patrón más diluido, diluyendo el patrón A 1:20 (5 cc. de A más agua destilada para completar 100 cc.). El nuevo patrón (C) contiene 20 microgramos de Chloromycetin por cc. Para plasma, suero o líquido céfalorraquídeo se prepara la siguiente serie de tubos:

Tubo N.º	Plasma o suero (cc.)	Patrón C (cc.)	Agua (cc.)	A.P.T.S. al 20 % (cc.)	Concent. de equivalentes de Chloromycetin (microgramos/cc. plasma)
1	1	3	12	4	60
2	1	2	13	4	40
3	1	1	14	4	20
4	1	0.5	14.5	4	10
5	1	0	15	4	0

Con filtrados sanguíneos es conveniente tomar 4 cc. de solución sobrenadante para el análisis después de la reducción con cinc, agregándole 1 cc. de ácido clorhídrico 0.5N antes de la diazotización y copulación. Patrones y desconocidos deben manejarse en la misma forma para evitar correcciones por diferencias en las diluciones. Los patrones preparados en la forma antes descrita compensarán tanto los valores de recuperación alterados como las muestras sin Chloromycetin. Cuando se desea un análisis de sangre total o de tejidos homogeneizados, las diluciones finales deben ser por lo menos 1:40 en vez de 1:20 para obtener mejores valores de recuperación.

Cálculos:

Las lecturas finales de los tubos A y B se comparan con las curvas patrón correspondientes para convertir las concentraciones de equivalentes de Chloromycetin. El valor obtenido con el tubo B es sustraído del obtenido con el tubo A para la corrección por las aminas aromáticas presentes antes de la reducción. El valor corregido (A-B) representa la concentración de equivalentes de Chloromycetin.

Debe recalarse que este valor incluye tanto los productos inactivos de degradación del Chloromycetin como el antibiótico activo. En la sangre no se observan diferencias marcadas entre los valores de las pruebas química y microbiológica durante las primeras horas después de la adminis-

tración, pero los valores químicos llegan a ser apreciablemente más altos después. En la orina se encuentra 10 veces más Chloromycetin por el método químico que por el microbiológico, debido a la excreción de productos inactivos de degradación del Chloromycetin.

Q. F. J. J. O.

REFERENCIAS

- ERLICH y cols. *J. Bacter.* 56-467-1948.
 ERLICH y cols. *Science* 106-417-1947.
 SMITH y cols. *J. Bacter.* 55-425-1948.
 BARTZ Q. R.; *J. Biol. Chem.* 172-445-1948.
 CARTER et al. *Science* 107-113-1948.
 GOTTLIEB y cols. *J. Bacter.* 55-409-1948.
 REBSTOCK M. C. y cols. *J. Am. Ch. Soc.* 71-2458-1949.
 CONTROULIS J. y cols. *ibid.* 71-2463-1949.
 LONG L. M. y cols. *ibid.* 71-2469-1949.
 SMADEL J. E. y Jackson E. S. *Science* 106-418-1947.
 WOODWARD T. E. y cols. *Ann. Int. Med.* 29-131-1948.
 DILL W. A. y Glazko A. J. *Fed. Proc.* 8-57-1949; *ibid.* pág. 34.
 SMITH y WORREL *Fed. Proc.* 8-253-1949.
Farinaud Presse Medicale 57-329-1949.
 FOSTER W. D. *JAMA* 141-131-1949.
 MUSSOTTO F. II *Policlinico* 56-1026-1949.
Notas Terapéuticas 42-115-1949.
Therapeutic Notes 56-157-1949.

Nota del colaborador: En este resumen hemos usado el término Cloromicetín para designar al antimicrobiótico por ser el nombre con que se le conoce en nuestro país; el nombre que en realidad le corresponde es cloramfenicol, pues el primero es una marca registrada.