

## ¿Puede improvisarse un químico especialista?

Conferencia pronunciada por el Profesor Dr. Juan F. Saredo en la Sesión inaugural de las Segundas Sesiones Químicas Rioplatenses. Buenos, Noviembre de 1942.

Señoras, Señores:

Comenzaré mi disertación agradeciendo los amables conceptos vertidos por el Dr. Wernicke al presentarme a este auditorio; también agradezco a las autoridades de la Asociación de Química y Farmacia del Uruguay el haberme designado para ocupar esta tribuna de honor; tribuna que es exponente de la cultura y cordialidad de los químicos del Río de la Plata.

Lamento que por circunstancias imprevistas, hayan fracasado las gestiones realizadas para que esta tribuna fuera ocupada por alguno de nuestros capacitados químico-industriales, los cuales por su especialización, podrían habernos brindado un tema más de acuerdo con el carácter de estas Segundas Sesiones Químicas Rioplatenses.

El título de mi conferencia es una pregunta: "¿Puede improvisarse un químico especialista?". La respuesta parece innecesaria, pues el incesante y extraordinario progreso, tanto en las distintas ramas de la química pura como aplicada, hacen lógicamente imposible la improvisación de especialistas; para resaltarlo, trataré de definir al especialista, no sólo en la ciencia química sino en todas las ciencias.

Un químico especialista no es quien práctica ordinariamente determinada actividad dentro de la química, en forma mecánica y rudimentaria, no conociendo el fundamento ni la finalidad de las operaciones que realiza; pero si un químico que practica ordinariamente determinada rama, estudia y amplía sus conocimientos tratando de apartarse a las nuevas orientaciones, tanto técnicas como científicas, podemos considerarlo un especialista. A mi juicio, el verdadero especialista debe colocarse en un plano superior: no sólo debe seguir la huella del progreso dentro de su rama, sino también tratar de no perder de vista el movimiento general de la ciencia madre, y aún todavía llenar otra condición: la de contribuir al adelanto de su actividad técnica o científica mediante investigaciones

personales; y todo esto, preparación adecuada, dedicación constante e investigación, es imposible improvisarlo.

No puedo lógicamente abarcar el estudio de la improvisación en todas las ramas de la química; me referiré únicamente a la química toxicológica, convencido de que mi exposición puede generalizarse a todas las especializaciones.

El ideal sería, como se hace en otras profesiones, entre los médicos por ejemplo, que los químicos respetaran mutuamente su especialización en la práctica diaria, no solamente para evitar errores con responsabilidades ilimitadas, sino también por razones de solidaridad gremial.

La actuación de un especialista no es una posición meramente circunstancial; ella obedece a las dificultades que ofrece en la práctica cualquier actividad y que aparentemente les parecen sencillas a los novicios a través de la lectura de textos corrientes.

La actuación de personas no especialistas en el campo de la química toxicológica es por demás frecuente, pues la función es aparentemente fácil, sugestivamente sencilla, y parece reducirse a realizar unas marchas clásicas de análisis inmediato bastante simples, como son: destrucción de sustancia orgánica, destilaciones, agotamientos y extracciones con el fin de aislar los tóxicos en grado de suficiente pureza, como para poder realizar determinadas reacciones de orientación y caracterización que nos llevan a la identificación de una sustancia química.

Dejando de lado las dificultades enormes que se presentan cuando se trata de aislar vestigios de una sustancia en presencia de grandes cantidades de materia orgánica, como es el problema de la investigación química toxicológica en las vísceras; aún las reacciones más simples pueden conducir a los no especialistas y novicios a graves errores por no saber ajustar los detalles de las reacciones. A este respecto, recuerdo con el cariño que recordamos todos, nuestra primera observación personal, lo que me ocurrió en una investigación de atropina por la reacción de Vitali. Seguía la técnica descrita en una obra clásica de Química Toxicológica (Ogier-Konn Abrest, ed. 1924, tomo II, pág. 300). Después de evaporar el alcaloide con ácido nítrico fumante, para producir la reacción se indica agregar unas gotas de solución alcohólica de potasa; disponiendo de una solución 0,5 N (al 2,8 %). Al utilizar ésta, la reacción fracasaba; pude constatar luego que el autor debía haber especificado la concentración; pues si se quiere obtener la coloración violeta característica con suficiente intensidad y persistencia, operando con mgs. 0,01 de atropina, es necesario que la solución alcohólica de potasa sea de una concentración superior al 20 %. La importancia de esta observación es que la reacción de Vitali tiene para la atropina un valor negativo fundamental, es reacción de exclusión.

Pero la función del Químico toxicólogo no se reduce a realizar operaciones analíticas más o menos complicadas, sino que debe

elevar a las autoridades competentes un informe con los resultados y conclusiones del análisis; es en ese informe donde se revela el verdadero especialista; en él, después de enumerar los antecedentes y materiales recibidos, debe describir sumariamente las operaciones y reacciones realizadas, destacando los detalles fundamentales de modo que se pueda en cualquier momento reconstruir el análisis; y en tercer término, debe interpretar y discutir el valor de las reacciones, como prueba de la presencia de una sustancia; relacionar esto con los antecedentes del caso, comparándolo luego con antecedentes bibliográficos selectos y oportunos, para deducir si la calidad y cantidad de sustancia encontrada puede constituir una prueba de la existencia de una intoxicación, y por último, esa discusión que a veces puede resultar muy compleja, debe ser resumida en una conclusión precisa y sintética, como para que pueda ser interpretada por personas no técnicas, como lo son generalmente, las autoridades judiciales.

Para darnos una idea de la importancia que tiene saber interpretar correctamente las reacciones y la redacción del informe químico toxicológico, voy a relatarles un caso donde tuve que actuar a pedido de la justicia uruguaya, juntamente con dos destacados peritos, en un pleito más confuso que difícil, quizá como todos los pleitos. Se originó como consecuencia de sanciones aplicadas por un análisis cuyo resultado había sido elevado a las autoridades por las personas que lo realizaron, más o menos en los siguientes términos: "Reacción de Keller y Killiani, positiva; Glucósidos".

Quienes me escuchan y conocen el alcance de la reacción de Keller y Killiani, les parecerá inverosímil que se hayan elevado repetidos informes (se hicieron dos análisis) con una conclusión semejante.

Como en las actas e informes no figura una descripción de la reacción observada, fué materialmente imposible saber concretamente cuál fué el famoso positivo. La reacción de Keller y Killiani tiene características tan particulares y una importancia tan grande en la química legal que ningún químico especialista hubiera omitido la descripción de la reacción observada.

Voy a describirles la reacción, particularizando detalles poco conocidos. Se utilizaron dos reactivos a base de ácido acético y sulfúrico concentrados, a los cuales se le agrega 1 ml. de solución de sulfato férrico al 5 % por cada 100 ml. de ácido; ésta es la fórmula clásica; el Codex Francés (Tomo II, pág. 275, ed. 1937) indica emplear ácido sulfúrico al 35 %; no veo la ventaja, pues he constatado que la reacción pierde sensibilidad; por mi parte, aconsejo reducir la cantidad de la solución férrica a sólo 0,5 ml.; la reacción evoluciona como con la fórmula clásica, pero el anillo azul característico se observa con más nitidez.

La técnica consiste en disolver el residuo sospechoso en 1 ml. de reactivo acético, solución que se superpone a 1 ml. de reactivo sulfúrico; en presencia de digitalina, en la zona de separación se

forma un disco oscuro que tiende al color negro y que con el tiempo evoluciona hacia la capa acética originando un anillo azul, el cual es bastante persistente, pero luego vira lentamente al verde; el anillo azul es la reacción característica de la digitalina. Al efectuar la reacción de Keller y Killinal pueden observarse reacciones diversas; así, en la capa sulfúrica, por debajo del disco de separación se produce frecuentemente y con anterioridad a la reacción fundamental, una coloración que varía del marrón al rojo violáceo y que cuando se trabaja con digitalinas corrientes se atribuye a impurezas; pero esas coloraciones se pueden observar con muchas sustancias y aún hemos podido observar en la capa acética, operando con diversas sustancias, inclusive la clorofila, coloraciones verdosas sin producirse antes el anillo azul.

Trabajando comparativamente por la evolución e intensidad de la reacción característica, es posible dosificar aproximadamente cantidades de digitalina que varían de mgr. 0,1 a 1 mgr.

Independiente de la cantidad de digitalina, otro factor que influye notablemente en el tiempo de aparición del anillo azul, es la temperatura; así, operando sobre mgrs. 0,2 de digitalina mientras que a la temperatura de 30° es posible observar un anillo nítido a los 15', si se opera a la temperatura de 15°, un anillo azul semejante sólo se observará después de 30'.

Es decir, que existen detalles que en un informe deben especificarse si se quiere reconstruir la reacción; estoy convencido de que si en este asunto hubiesen intervenido químicos especializados quizás se hubiera evitado el proceso, o por lo menos con la redacción de buenos informes, se hubiera desviado a situaciones concretas facilitando la acción de la justicia.

En ese sintético informe, que para tranquilidad nuestra no fué hecho por químicos, existe un doble error: uno haberse conformado con una sola reacción química para dar por caracterizada una sustancia; más adelante insistiré sobre esto, y el otro, es la interpretación dada a la reacción que es absolutamente equivocada; un positivo, cualquiera que sea, no puede considerarse positivo sin glucósidos y si fuera el característico de la digitalina, sólo podría considerarse específico de acuerdo con nuestros actuales conocimientos, de un limitadísimo número de glucósidos, de los que tienen la digitoxina como soporte azucarado; el glucósido más importante de este tipo es la digitalina cristalizada o digitoxina, que por hidrólisis origina un aglucón, la digitoxigenina y 3 moléculas de digitoxosa; este azúcar forma parte también de otros dos glucósidos que dan la reacción característica: la gitalina y la gitoxina, extraídas también de las hojas de la *Digitalis Purpúrea L.*, y por contraste, el glucósido llamado digitalina verdadera, extraído de la semilla de esa misma planta, no da la reacción característica, pues por hidrólisis origina otros azúcares, la digitalosa y la glucosa. No voy a insistir sobre esto que está tratado en forma completa en un trabajo del Prof. Dr. Arturo Stoll sobre "Los glucósidos cardíacos", traducido por

el Prof. Dr. Pablo F. Roy, y publicado recientemente en la Revista del Centro de Estudiantes de Farmacia y Bioquímica, B. Aires, Núm. 6-7, año 1942.

Para finalizar con este punto y mostrarles las dificultades que ofrece la investigación química toxicológica de la digitalina, les voy a resumir un trabajo que he realizado juntamente con un perito que intervino en este asunto.

Las experiencias se realizaron en un caballo, comenzándose por hacer análisis en blanco de orina y saliva, luego se procedió a intoxicarlo en forma progresiva, administrándole por vía endovenosa y a intervalos de 24 horas, las siguientes cantidades de digitalina: mgrs. 15, 10, 8 y 8; luego de la cuarta inyección, después de haber recibido 41 mgrs. de digitalina, el animal murió. Mientras vivía, se le extrajo orina y saliva en dos ocasiones; después de muerto se separan las vísceras más aparentes para la investigación: riñones, vejiga, parótidas, tiroides, miocardio, hígado y bazo. La investigación se hizo siguiendo fundamentalmente la técnica clásica de Stas Otto con ligeras modificaciones, destinadas principalmente a purificar el llamado residuo "éter ácido". El valor de la técnica se verificó previamente utilizando la misma digitalina que se inyectó al animal, mediante extracciones de pequeñas cantidades de digitalina en medios medianamente complejos como es la saliva.

El resultado de todos los análisis fué completamente negativo; no pudimos observar una reacción que pudiera calificarse de dudosa y eso que los residuos finales sólo eran divididos por nosotros en dos partes para efectuar las reacciones de Keller y Killiani y la de Lafon; reacción ésta que muestra para las digitalinas corrientes por nosotros ensayadas, mayor sensibilidad que la de Keller y Killiani.

Esta experiencia negativa no hace más que confirmar las célebres experiencias de Lafon sobre perros, cuyas conclusiones transcriben la mayoría de los libros sobre Toxicología. (Véase la obra ya citada por Ogier y Kohn Abrest).

La otra parte de la disertación voy a dedicarla principalmente a resaltar la figura del toxicólogo italiano Francisco Selmi, a quien considero auténtico y perfecto especialista en esta rama de la química.

En Roma, en 1874, se produce la muerte sospechosa del General Gibbone. Como se desconfiaba que hubiera muerto intoxicado, el juez ordena el análisis de las vísceras; el informe establece la presencia de un alcaloide, la delfinina. Afortunadamente, antes de ser condenado el sirviente, que era el acusado, se ordena un segundo análisis, que esta vez fué confiado a un químico de Bolonia, Francisco Selmi. El segundo informe, después de discutir el valor dudoso de las reacciones empleadas en el primero, y luego ante el resultado negativo de nuevas reacciones y en especial de la experimentación fisiológica sobre una rana cuyo corazón se detenía en forma distinta que cuando actúa la delfinina, concluye que debe descartarse la presencia de ese alcaloide, atribuyendo las reaccio-

nes observadas por los primeros peritos a bases orgánicas producidas durante la putrefacción. La actuación de un químico especialista salvó la vida de un inocente y reveló a los toxicólogos la importancia de las llamadas ptomainas.

Selmi conocía su existencia hacia más de dos años; así lo establece una comunicación por él elevada a la Academia de Ciencias de Bolonia el 25 de enero de 1872.

Podrá discutirse la paternidad absoluta del descubrimiento de las ptomainas, pero es indiscutible que fué Selmi quien reveló su importancia y la forma en que podrían originar graves errores, llamando la atención a todos los toxicólogos de su época. Basta analizar las consecuencias que tuvo el asunto del G. Gibbone y la cantidad grande de memorias que se publicaron en las que se descubrían muchas ptomainas con reacciones químicas y fisiológicas semejantes a muchos alcaloides; es verdad que se exageró mucho, tanto que se creó un estado de confusión en el que se llegó a negarle valor a la prueba química en la intoxicación por alcaloides; esta situación motivó la intervención del Ministerio de Gracia y Justicia de Italia, que nombró una Comisión integrada con los más destacados químicos de la época: Selmi, Guareschi, Gannizaro, Marino Zucco y Paterno. Su cometido era informar sobre "la prueba química en la intoxicación". Selmi, en su último libro publicado en 1881, "Ptomainas y alcaloides cadavéricos" cita los temas que propuso para su estudio. En realidad es, aún hoy, todo un plan de trabajo y citaré aquí algunos para que se vea qué poco ha adelantado la química toxicológica:

"Cuál es la dosis mínima para matar un animal y ver si es posible recuperarla total o parcialmente. Estudiar las transformaciones que sufren los alcaloides in vivo, post-mortem y durante el proceso de extracción. En qué modo y hasta dónde influyen las impurezas, en especial las ptomainas, en las reacciones químicas y fisiológicas de los alcaloides".

Desgraciadamente, Selmi murió poco después; creo que la Comisión no llegó a expedirse, pues a pesar de todas las tentativas que realicé durante mi estada en Italia, en 1927, no logré localizar ese informe.

Selmi tiene, a mi juicio, un mérito mayor: es uno de los fundadores de lo que podríamos llamar, criterio químico legal sobre la caracterización de una sustancia; criterio que siguen y comparten los toxicólogos modernos; basta comparar el criterio que adoptaban los químicos de 1870, donde para acusar la presencia de un alcaloide les bastaba constatar que su mal purificado residuo diera reacción alcalina al tornasol realizando luego varias reacciones generales y algunas reacciones dudosas de coloración, confirmando por último su toxicidad inyectándolo a una rana.

Frente a este estado de cosas, Selmi en su libro "Criterio en la investigación de tóxicos vegetales", publicado en 1880, exigía que se purificaran los residuos y si era posible, obtener el alcaloide

cristalizado; luego, realizar reacciones químicas, micro-químicas y fisiológicas, las cuales debían concordar completamente; sólo así podría darse por caracterizado un alcaloide.

Selmi tenía procedimientos propios de destrucción y técnicas especiales para reacciones químicas; además de ser un buen experimentador fisiológico, como lo probó en el asunto del G. Gibbone, practicaba ordinariamente reacciones microquímicas con un reactivo de Bouchardat modificado, pues para evitar las confusiones por cristalización del yoduro de potasio, utilizaba una solución de yodo en ácido yodhídrico. Empleaba también el ácido pícrico como reactivo microquímico; según Vitali, debió ser de los primeros en aplicar estas reacciones microquímicas sobre las cuales tenía formado un criterio exacto pues afirma en un folleto publicado en 1875 sobre "las dificultades que se encuentran en la investigación toxicológica" que mientras se obtienen fácilmente reacciones micro-cristalinas con soluciones puras de alcaloides, en los residuos viscerales, era muy difícil, pues la simpurezcas impedían la cristalización.

La práctica constante de una especialización crea lo que llamaría el sentido o criterio del especialista; en los toxicólogos el sentido se orienta, en lo que se relaciona con la caracterización de una sustancia, a la selección de las reacciones de modo que la caracterización resulta como una consecuencia, por la coordinación perfecta de varias reacciones. Ese criterio, bien delineado por Selmi, nos evita muchas veces cometer errores ante reacciones imprevistas.

No hace mucho recibí para analizar el contenido de un paquetito que la Policía había sacado a un presunto traficante de estupefacientes; se trataba de un polvo blanco, de aspecto escamoso, y creyendo resolver fácilmente el problema, después de hacer con las debidas precauciones la reacción de anestesia sobre la extremidad de la lengua y obtener resultado positivo, disolví un poco de polvo en agua, y como las reacciones generales de alcaloides eran positivas, hice varias preparaciones para obtener el picrato de alcaloide, y observadas minutos más tarde al microscopio mostraban la presencia de hermosos cristales de picrato de cocaína. Creí que fuera cocaína, pero al pretender verificar y completar la caracterización, por otras reacciones, y el punto de fusión, con sorpresa constaté que se trataba de otra sustancia. Orientado por su punto de fusión y por su acción anestésica pude luego, por la serie de reacciones funcionales, caracterizar esa sustancia; era novocaína; y comprobé que da un picrato que cristaliza muy bien y cuya forma siendo muy semejante a la de la cocaína, puede fácilmente llevar a la confusión.

Antes de terminar, quiero adelantarles un trabajo que estoy realizando con el fin de buscar un reactivo micro-fisiológico general de sustancias tóxicas orgánicas. La idea no es nueva, se han publicado muchos trabajos con orientación semejante utilizando protozoarios; los trabajos que conozco son bastante incompletos, como por ejemplo el publicado por Doberne y Morbilloz en C. R. Soc. Biol. de

Franco, en 1926, tomo 94, pág. 704. El micro-organismo que yo utilizo es un ser de mayor organización que los protozoarios, es un rotífero, que por su tamaño y movilidad se presta admirablemente para este trabajo. Como resumen les diré que mientras la cocaína, dionina, heroína, codeína, estrocnina, aconitina, atropina, quinina y cafeína muestran una gran toxicidad, la morfina en soluciones al 5 por mil y la digitalina en solución saturada no tienen aparentemente acción tóxica; el veronal y luminal ejercen una interesante acción de adormecimiento.

Hemos visto las dificultades y problemas que ofrece la química toxicológica; hay amplio campo para la investigación, demasiado para los pocos que se ocupan de ella; huérfana hasta del apoyo de las autoridades judiciales, que son las que más precisan de su colaboración, no es nada raro que su progreso sea muy poco o nulo en este siglo de los grandes progresos científicos.

Estoy convencido de que si se crearan laboratorios con químicos especialistas en diversas técnicas, como ser: químicas, microcristalinas, espectrográficas y fisiológicas, y éstos trabajaran en armonía, podría la química toxicológica obtener grandes triunfos en investigaciones que parecen hoy imposibles; pero para eso los técnicos deben investigar en forma permanente para estar en condiciones de actuar cuando se presentan los casos complejos; de lo contrario, el descrédito de la peritación química legal será total, como lo preveía Vitali en un opúsculo publicado en 1899, donde combatía, él también, la designación de peritos en materia legal, "que sólo se ocupan de investigaciones de este género cuando se les otorga esa misión".