

REAL ACADEMIA DE CIENCIAS
EXACTAS, FISICAS Y NATURALES

EN LA ERA ANTIBIOTICA

DISCURSO

LEIDO EN EL ACTO DE SU RECEPCION

POR EL

EXCMO. SR. D. FLORENCIO BUSTINZA
LACHIONDO

Y

CONTESTACION

DEL

EXCMO. SR. D. OBDULIO FERNANDEZ
RODRIGUEZ

EL DIA 12 DE DICIEMBRE DE 1962



M A D R I D

Domicilio de la Academia: VALVERDE, 22

TELEFONO 221 25 29

1 9 6 2

REVISTA DE ECONOMÍA DE ESPAÑA

EN LA ERA ANTIGUA

DE ECONOMÍA DE ESPAÑA

CONSEJO DE ECONOMÍA DE ESPAÑA

DE ECONOMÍA DE ESPAÑA

DE ECONOMÍA DE ESPAÑA



Depósito legal M. 15.990 - 1962

DISCURSO

DEL

EXCMO. SR. D. FLORENCIO BUSTINZA LACHIONDO

TEMA:

EN LA ERA ANTIBIOTICA

EXCMO. SR. PRESIDENTE,
EXCMOS. SRES. ACADÉMICOS,
SEÑORAS Y SEÑORES.

Volo et esse et haberi gratus.

Con esta frase de Cicerón quiero expresar mi profunda gratitud a los miembros de esta Real Academia de Ciencias que tan magnánimos han sido conmigo al elegirme para ocupar la vacante que dejó al fallecer el eminente biólogo y ejemplar religioso, Rvdo. P. Jaime Pujiula, S. J., que fundó en Roquetas (Tortosa), en 1910, el *Laboratorio de Biología del Ebro*, que al ser trasladado a Barcelona se convirtió en el famoso *Instituto de Biología de Sarriá*, del cual fué Director el P. Pujiula hasta su muerte. Gozó de tal prestigio, que a sus laboratorios acudieron a estudiar Biología centenares de religiosos y de seglares; entre éstos, muchos médicos, farmacéuticos y naturalistas.

Fué el Rvdo. P. Pujiula investigador incansable y escritor fecundo, autor de numerosas obras que todos hemos consultado, tales como su *Citología*, su *Histología*, *Embriología* y *Anatomía Microscópica Vegetales*, sus *Elementos de Embriología del Hombre y demás Vertebrados*, sus *Problemas Biológicos*, etc.

Al tomar posesión de su cargo en esta Real Academia, el 12 de noviembre de 1941, su discurso versó sobre «*El valor de los Mecanismos en la Ontogénesis*». Contestó el 24 de marzo de 1943 al discurso de ingreso en esta Corporación del que fué para mí entrañable amigo, el religioso agustino Rvdo. Padre Luis M.^a de Unamuno, y preparó la oración inaugural del Año Académico 1950-51 sobre el tema «*Los desvíos de la vida*».

Fué el Rvdo. P. Pujiula Maestro de numerosas generaciones de estudiosos, y derramó con generosidad su saber. Su humildad ha sido cantada por todos los que le trataron. Su amor a la verdad queda reflejado en las siguientes líneas suyas :

«... porque la verdad es como el sol, que no necesita de dijes y atavíos para parecer hermosa, antes de suyo pinta y hermosea los objetos que toca.»

Al disponerme a ocupar la vacante que dejó en esta Academia tan ilustre hombre de Ciencia y de tan excelsas cualidades humanas, lo hago con mi mayor entusiasmo, pero con toda modestia, consciente de mi insignificante valer, y con agradecimiento a los miembros de esta docta Corporación por la inmerecida distinción de que me han hecho objeto y muy especialmente a mi querido Maestro, el Profesor D. Obdulio Fernández, de quien tantas enseñanzas y tantas pruebas de afecto he recibido a lo largo de 36 años de amistad y que también ahora ha tenido la amabilidad de preparar la contestación al discurso que, sobre el tema

EN LA ERA ANTIBIOTICA,

voy a someter a la consideración de todos ustedes.

LOS PRECURSORES

«Los grandes héroes no son los que han vencido, sino los que han caído intentando grandes hazañas, las hazañas quiméricas y sobrehumanas que no está en las fuerzas del hombre el poder realizar.»

GREGORIO MARAÑÓN

Con anterioridad a la publicación por Fleming, en 1929, de su descubrimiento de la penicilina, se conocían en la literatura científica varios centenares de trabajos relacionados con los antagonismos microbianos e incluso se habían realizado ensayos terapéuticos experimentales en animales y en personas con extractos de bacterias y de mohos, y con productos de su metabolismo.

No es mi propósito presentar aquí a todos los precursores, ya que ello exigiría un libro voluminoso. Me limitaré a mencionar a los que estimo más significativos y a dar breve cuenta de sus interesantes observaciones.

* * *

Leeuwenhoek, el iniciador de la Protozoología y de la Bacteriología, el primero en observar al microscopio protozoos y bacterias vivas, fué también el primero en apreciar el efecto microbicida —que hoy podemos llamar *antibiótico*— frente a sus *animalículos* de los extractos de determinadas plantas: *frutos de pimienta negra, clavo de especia, nuez moscada* y del *vinagre del vino* (*).

Por entonces, ni Leeuwenhoek ni nadie captó el significado de aquellos pequeños seres, su trascendental misión en la naturaleza, la acción patógena de algunos de ellos y el efecto beneficioso de otros; pero el insigne hombre de ciencia holandés, con su gran habilidad para construir lentes y para emplearlas adecuadamente, y con su insaciable curiosidad intelectual y con su enorme paciencia, observó en sus sencillos microscopios cómo sus animalículos —*microbios*— dejaban de moverse y morían —*decía él*— al ponerse en contacto con los extractos y líquidos mencionados.

Para Leeuwenhoek, el cese del movimiento ciliar o flagelar en sus *animalcula* era sinónimo de muerte. Claro está, que nosotros hoy no damos por muerto a un bacilo móvil simplemente porque haya perdido su movilidad; lo sembramos en medios de cultivo adecuados para ver si prolifera, si crece y se desarrolla, y solamente le damos por muerto cuando después de determinadas investigaciones y pruebas llegamos a la conclusión de que han cesado definitivamente, irreversiblemente, todas sus actividades enzimáticas. Pero

(*) Véanse sus cartas de fecha 9 octubre y 7 noviembre de 1676 dirigidas a la Royal Society de Londres en el volumen II (1676-1679) en *The Collected Letters of Antoni van Leeuwenhoek*. Edited illustrated and annotated by a Committee of Dutch Scientists and published by Messrs. Swets and Zeitlinger. Ltd. de Amsterdam, 1941.

situémosnos en los tiempos de Leeuwenhoek y, aun juzgándole con nuestros conocimientos actuales, no puede uno por menos de asombrarse ante sus maravillosas observaciones y llegar a la conclusión de que debemos también aplicarle el calificativo del *primer observador del efecto antibiótico de determinados extractos vegetales*.

* * *

En 1802 publicó en Londres el médico francés J. B. Regnault, un trabajo (1) en el que se ocupa de las aplicaciones del *líquen islándico* en el tratamiento de la tisis pulmonar. Naturalmente Regnault no presenta radiografías, ni velocidades de sedimentación, ni recuentos globulares, ni fórmulas leucocitarias, ni densidad bacilar de los esputos, etc. No olvidemos que se trata de enfermos estudiados y tratados a fines del siglo XVIII y aún el genio de Laënnec no había ideado el *estetoscopio*, ni Villemin había demostrado la *transmisión experimental de la tuberculosis*, ni Koch había descubierto el *bacilo* que lleva su nombre, ni Forlanini había inventado el *neumotórax artificial unilateral*, ni Roentgen había descubierto los *rayos X*...

No hay duda de que el líquen islándico ha gozado de gran reputación, pero no pretendo, naturalmente, resucitar la terapia de la tuberculosis pulmonar con ese líquen, aunque sí mencionaré de paso que casi siglo y medio después de publicarse el trabajo de Regnault, lograron Stoll y colaboradores extraer de *Cetraria islándica* una sustancia activa frente al bacilo tuberculoso, el *ácido usnico racémico*, y yo he observado la actividad *in vitro* de extractos de *Cetraria islándica* sobre diversas especies de *Mycobacterium* (2) (3).

* * *

El 30 de junio de 1958 visité el Museo de Pasteur, en el Instituto Pasteur, en París, y me encontré con una gran sorpresa en el stand dedicado a la fermentación láctica (1857), pues allí vi: *Ballon contenant du jus d'oignon brut (cru). La levûre lactique s'y développe et non la levûre alcoolique*, y en las proximidades había otro recipiente en el que se había puesto jugo de cebolla hervido, y en dicho jugo la levadura alcoholígena se había desarrollado rápidamente. Las experiencias reflejadas en aquellos dos matraces no dejan lugar a duda de que, en 1857 el insigne Pasteur descubrió el efecto antibiótico del jugo crudo de la cebolla, que selectivamente inhibía a la levadura alcoholígena pero no al microbio productor de ácido láctico (4).

* * *

En la sesión del 6 de agosto de 1860 presentó Claude Bernard a la Academia de Ciencias de París un trabajo de Fordos (5), informando haber obtenido cristalizada la piocianina, y hoy podemos decir que fué el *primer antibiótico obtenido cristalizado*, y tres años después, el día 16 de junio de 1863, en comunicación presentada por Dumas, dió también cuenta Fordos (6) de sus investigaciones sobre la materia colorante del *pus azul*, y de este trabajo transcribo las siguientes interesantes líneas:

«L'apparition de la pyocyanine dans les produits des suppurations paraît être d'un pronostic favorable, du moins quand la matière colorante y existe en quantité notable. Les cas de suppuration bleue que j'ai été à même d'observer ont été, en général, suivis de guérison, bien que plusieurs de ce cas fussent très graves.»

Debo señalar que Fordos obtuvo la piocianina a partir de gasas y de otro material de cura impregnado del pigmento azul. Aun no había sido aislado el bacilo piocianico en cultivo puro. Lo haría así Gessard en 1882.

En la primavera de 1868 inició el famoso cirujano alemán Billroth sus investigaciones sobre las relaciones entre esporas de levaduras y de mohos, bacterias y vibriones, y en la introducción a su Monografía «*Untersuchungen über die Vegetationsformen von Coccobacteria septica*» (7), publicada en 1874, dió cuenta de la existencia de antagonismo activo entre ciertos microorganismos.

La Dra. Marlene Jantsch, en 1953, ha llamado la atención sobre las observaciones de Billroth considerándole como precursor en las investigaciones antibióticas, y de ella son (8) las siguientes líneas:

«*Zusammenfassend glaube ich sagen zu dürfen, dass Billroth das Verdienst zugesprochen werden kann, als erster-nach vor Pasteur-auf den Antagonismus von Penicillium und pathogenen keimen hingewiesen zu haben.*»

Coincidiendo con la época en que Billroth realizaba sus observaciones, el doctor William Roberts, en Manchester, hizo investigaciones (9) relacionadas también con el crecimiento de bacterias y hongos, y con fecha de 3 de marzo de 1874 se recibió en la Royal Society su trabajo titulado *XII. Studies on Biogenesis* (10), del cual tomo las siguientes líneas:

«*The avoidance of air-contamination is important for another reason. The air is admitted, by most observers, to be highly charged with fungoid germs, and the growth of fungi has appeared to me to be antagonistic to that of BACTERIA, and VICE VERSA. I have repeatedly observed that liquids on which the PENICILLIUM GLAUCUM was growing luxuriantly could with difficulty be artificially infected with BACTERIA; it seemed, in fact, as if this fungus played the part of the plants in an aquarium, and held in check the growth of BACTERIA, with their attendant putrefactive changes. On the other hand, the PENICILLIUM GLAUCUM seldom grows vigorously, if it grows at all, in liquids which are full of Bacteria.*

It has further seemed to me that there was an antagonism between the growth of certain races of BACTERIA and certain other races of BACTERIA.»

El 13 de enero de 1876, John Tyndall presentó una comunicación verbal a la Royal Society que entregó completa para su publicación el 6 de abril del mismo año con el título «*The optical deportment of the atmosphere in relation to the phenomena of Putrefaction and Infection.*» En dicho trabajo, Tyndall da cuenta de experiencias realizadas en 1875 con la finalidad de refutar la teoría de la generación espontánea de la vida y en el curso de las cuales observó fenómenos de interferencia o antagonismo entre bacterias y mohos, y de ese trabajo (11) tomo las siguientes interesantes líneas:

«*In every case where the mould — se refiere a un Penicillium—was thick and coherent the BACTERIA died, or became dormant, and fell to the bottom as a sediment. The growth of mould and its effect on the BACTERIA are very capricious...*»

«*The BACTERIA which manufacture a green pigment appear to be uniformly victorious in their fight with the PENICILLIUM.*»

* * *

Pasteur y su colaborador Joubert comunicaron el 16 de julio de 1877 a la Academia de Ciencias de París, en su trascendental trabajo «*Charbon et Septicémie*» (12), de que *si un cultivo del bacilo causante del carbunco es contaminado por un microbio aerobio (par exemple une des bactéries communes —dicen Pasteur y Joubert—), la bacteridia carbuncosa no se desarrolla o lo hace muy precariamente, y muere en plazo más o menos largo.* También die-

ron cuenta de haber observado que la introducción en animales susceptibles al carbunco de una suspensión de bacteridia carbuncosa a la cual se adiciona una de esas bacterias comunes, no provoca el carbunco, y con su visión genial Pasteur captó la trascendencia del fenómeno, infiriendo la siguiente deducción profética:

«Tous ces faits autorisent peut-être les plus grandes espérances au point de vue thérapeutique.»

* * *

En 1885, Arnaldo Cantani, en Nápoles, empleó un cultivo del microbio saprofita *Bacterium thermo* para tratar a una enferma de tuberculosis pulmonar que tenía una gran caverna en el lóbulo superior del pulmón izquierdo (13). Por inhalación mediante pulverizador se le aplicó un cultivo en gelatina del *B. thermo* diluido con caldo de carne, y la enferma respondió bien al tratamiento: la expectoración disminuía de día en día, los bacilos tuberculosos iban desapareciendo de los esputos, siendo reemplazados por el *B. thermo*, la fiebre iba descendiendo, el peso aumentaba y paralelamente mejoraba el estado general y finalmente la enferma quedó libre de bacilos en los esputos al examen microscópico y la inoculación de dichos esputos a animales de experimentación no provocó síntomas de tuberculosis.

Este fué el primer caso de la aplicación de bacterias vivas para el tratamiento de la tuberculosis en el hombre, y Cantani quedó tan impresionado por el resultado logrado que concibió la esperanza de que otras experiencias podrían conducir al aislamiento de bacterias que pudieran ser utilizadas en la lucha contra las infecciones producidas por bacterias patógenas.

En ese mismo año, 1885, el médico bacteriólogo rumano Víctor Babes demostró (14) que determinadas bacterias pueden elaborar *in vitro* sustancias químicas o modificar el medio de cultivo de modo que impiden el desarrollo de otras bacterias y llegó a decir así:

«Si l'on était très avancé dans l'étude expérimentale du conflit des bactéries entre elles, on arriverait, vraisemblablement, à traiter certains maladies bactériennes par d'autres bactéries.»

* * *

En 1887 presentó el Dr. C. Garrè en Basilea, con motivo de la Trigésimo Tercera Asamblea de la Unión Central de Médicos en Suiza, un interesante trabajo sobre *Antagonismos bacterianos* (15), señalando que muchos microbios al desarrollarse en determinados medios los hacen impropios para el desarrollo posterior de otros y que el fenómeno no es general, sino limitado a determinadas especies. Garrè ideó métodos para investigar *in vitro* el antagonismo, y para ello sembró simultáneamente en estrías paralelas y alternativamente, a cierta distancia unas de otras, por ejemplo, el *Bac. fluorescens putidus* y el *Staphylococcus pyogenes aureus*. El primero crecía más rápidamente y sus productos de secreción se difundían por el medio e inhibían al estafilococo cuando éste había sido sembrado a corta distancia del *B. fluorescens*.

Para Garrè el antagonismo era debido a sustancias específicas difusibles que inhibían específicamente a determinadas bacterias.

Este luminoso trabajo de Garrè, en el cual se describen técnicas para explorar los antagonismos, significó un gran progreso, ya que estimuló a otros a proseguir este tipo de investigaciones que en el sentir de Garrè podrían conducir a resultados de interés terapéutico.

En 1888, Freudenreich observó que filtrado el caldo en el cual se había desarrollado el *bacilo piociánico* no permitía el crecimiento de determinadas bacterias cuando éstas eran sembradas en él, y al año siguiente, 1889, Bouchard observó que el *B. piociánico* inyectado en conejos pocas horas después de la inoculación de la *bacteridia carbunosa* detenía en algunos casos el desarrollo de la infección experimental por el *B. anthracis*.

Charrin y Guignard trataron de penetrar en el mecanismo por el cual se producía esa protección y estudiaron la acción del *B. piociánico* sobre el bacilo causante del carbunco y publicaron en 1889 su trabajo «*Action du bacille pyocyanique sur la bactériidie charbonneuse*» (16), del que reproducen las siguientes luminosas líneas :

«*Toutefois, ce serait exagérer que de croire l'action des produits solubles suffisante à elle seule pour tout expliquer. Ces produits atténuent, ils ne tuent pas, ou du moins difficilement. Il est possible que le phagocytisme profite de cette atténuation pour remporter une victoire devenue plus facile. Il est probable aussi que d'autres conditions de ce mécanisme nous échappent.*»

Honl y Bukovsky comunicaron el 21 de octubre de 1898 a la Academia de Ciencias de Praga sobre la aplicación en forma de apósitos húmedos del líquido de metabolismo del *B. piociánico* en el tratamiento de 100 casos de úlceras de las piernas, algunas de ellas graves, y al parecer con buenos resultados clínicos, y al año siguiente, 1899, Emmerich y Löw emplearon (17) un extracto obtenido a partir de un cultivo de seis semanas del *B. piociánico* y al cual designaron con el nombre de *piocianasa*. Esta *piocianasa* era capaz de *lisar in vitro* suspensiones de *B. anthracis* y estaba dotada de actividad bactericida frente al *bacilo tífico, diftérico* y otros, y fué empleada en *infecciones oculares, tratamiento de sinusitis, anginas, como preventivo y curativo de la difteria, se inyectó en abscesos, en mastitis bovina, etc.*

Donde mayor predicamento gozó la *piocianasa* fué en Alemania, aunque también se empleó en Francia, pero los resultados eran discrepantes y poco a poco fué abandonado su empleo, aunque su aplicación esporádica llegó hasta 1936-37. De todas formas, la *piocianasa*, que realmente era un complejo de sustancias, *fué interesante por su actividad selectiva in vitro é in vivo frente a determinadas bacterias y por estar desprovista prácticamente de toxicidad frente a las células animales.*

* * *

El Dr. Paul Vuillemin, en 1889, en su trabajo titulado «*Antibiose et Symbiose*», no solamente emplea por primera vez el término *antibiose*, sino también los términos *antibioté, action antibiotique* e *influences antibiotiques*.

Con el término *antibiosis* designó Vuillemin el fenómeno mediante el cual un ser se opone a la vida de otro.

Del trabajo de Vuillemin (18) tomo sus últimas líneas que son significativas :

«*Puisque les forces directement destructives et les forces directement hypertrophiantes, également nuisibles dans certain cas, peuvent aussi être rendues avantageuses par des influences compensatrices: l'homme par une intervention raisonnée, dominera les maladies des plantes, des animaux, de sa propre espèce, autant qu'il connaîtra les puissances symbiotiques ou antibiotiques, qu'il doit renforcer ou neutraliser, pour que tout s'équilibre et se régularise autour de lui.*»

En 1899, H. Marshall Ward aceptó el término de *antibiosis* propuesto por Vuillemin y lo aplicó al *antagonismo microbiano*.

En 1895, el Dr. Vincenzo Tiberio publicó un trabajo de extraordinario interés: «*Sugli Estratti di Alcune Muffe*» (19), realizado en el *Istituto d'Igiene della R. Università di Napoli*, y en él da cuenta de haber obtenido extractos acuosos de diferentes mohos, *Penicillium glaucum*, *Aspergillus flavescens* y *Mucor mucedo*, y de haber estudiado su actividad frente a diversas bacterias patógenas, tales como *B. anthracis*, *bacilo tífico*, *colibacilo*, *vibrión cólerico*, *estafilococo*, *estreptococo*, etc., y también de haber efectuado ensayos de protección y de curación en cobayos. Es tan interesante este trabajo experimental de Tiberio que reproduciré sus propias líneas:

p- 95. «*Risulta chiaro da queste osservazioni che nella sostanza cellulare delle muffe esaminate son contenuti dei principi solubili in acqua, forniti di azioni battericida: sotto questo riguardo sono più attivi o in maggior copia quelli dell'ASP. FLAVESCENS, meno quelli del MU. MUCEDO e del PENN. GLAUCUM.*»

p- 96. «*Il liquido avuto dall' ASP. FLAVESCENS è dotato di notevole potere chemio-tattico.*»

p- 98. «*Il solo liquido avuto dall' ASP. FLAVESCENS esercita un'azione positiva nelle infezioni sperimentali da B. del tifo e V. del colera*»;

y a continuación, refiriéndose al extracto obtenido de *Asp. flavescens*, dice que tiene acción preventiva y terapéutica.

Es decir, que debemos considerar al Dr. Vincenzo Tiberio como el *primer investigador que ensayó in vivo, en animales, la actividad terapéutica de extractos procedentes de ciertos mohos.*

* * *

En 1896, otro investigador italiano, el Dr. B. Gosio, refiere el haber aislado, a partir de maíz enmohecido, un *Penicillium* que estimó era el *P. glaucum* (20), el cual cultivado en medio Raulin o en medio a base de harina de maíz producía una *sustancia de naturaleza fenólica* que logró obtener cristalizada en pequeña cantidad, y experimentando con ella observó que tenía actividad frente al *B. anthracis*.

Se estima hoy que la sustancia cristalizada por Gosio es el *ácido micofenólico*, obtenido —y bautizado así— por Alsberg y Black en 1913 a partir de líquidos metabolizados por *Penicillium stoloniferum*; y más recientemente, Florey y colaboradores, en 1946, dieron cuenta de sus investigaciones sobre la actividad antibacteriana y antifúngica del *ácido micofenólico*.

Gosio fué el primer investigador que obtuvo a partir de un Penicillium un antibiótico al estado cristalino.

* * *

El 17 de diciembre de 1897 el médico Ernest Duchesne defendió públicamente en la Facultad de Medicina y Farmacia de Lyon su Tesis doctoral «*Contribution à l'étude de la Concurrence Vitale chez les Microorganismes. Antagonisme entre les Moisissures et les Microbes*», y en ella especifica sus observaciones y experiencias en relación con los antagonismos entre mohos y bacterias, y con visión realmente profética vislumbró el alcance terapéutico que pudiera derivarse de la concurrencia entre mohos y bacterias.

Veamos las conclusiones V y VI —las últimas— de su Tesis:

V. Il semble, d'autre part, résulter de quelques-unes de nos expériences, malheureusement trop peu nombreuses et qu'il importerait de répéter à nouveau et de contrôler, que certain moisissures (*Penicillium glaucum*), inoculées à un animal, en même temps que des cultures très virulents de quelques microbes pathogènes (*B. coli* et *B. typhosus* d'Eberth) son capables d'atténuer dans de très notables proportions la virulence de ces cultures bactériennes.

VI. On peut donc espérer qu'en poursuivant l'étude des faits de *concurrence biologique* entre *moisissures* et *microbes*, étude seulement ébauchée par nous et à laquelle nous n'avons d'autre prétention que d'avoir apporté ici une très modeste contribution, on arrivera, peut-être, à la découverte d'autres faits directement utiles et applicables à l'hygiène prophylactique et à la thérapeutique.

Es decir, que en tres años consecutivos, 1895, 96 y 97, independientemente e ignorándose sus respectivos trabajos, dos científicos italianos y otro francés realizaron investigaciones con mohos, y Duchesne vislumbró que *lle-garía el día en que se descubrirían fenómenos de antagonismo entre mohos y bacterias que tuvieran utilidad terapéutica.*

* * *

En 1903, el Prof. A. Lode, del Instituto de Higiene de la Universidad de Innsbruck, publicó un trabajo sobre *Antagonismos Bacterianos* (21), señalando que había observado en un cultivo de *Micrococcus tetragenus* un contaminante antagonista del anterior y que resultó ser una bacteria Gram positiva que producía sustancia difusible que inhibía a ciertas bacterias, entre ellas al *B. anthracis* y al *Staphylococcus aureus*. Lode inyectó el líquido con la sustancia activa concentrada a animales de experimentación y observó que no era tóxica, y esto le hizo concebir la esperanza de que quizá sería útil para prevenir o curar enfermedades producidas por microbios sensibles, pero los ensayos realizados en ratones y con *Micrococcus tetragenus* fueron poco estimulantes y completamente negativos.

Lode dice así:

«Die bisher gemachten Tierversuche, die sich nur auf Mäuse und den *Microc. tetragenus* beziehen, waren entmutigend und völlig negativ.»

Las investigaciones de Lode fueron bien planteadas y bien conducidas y aun que los resultados terapéuticos fueron nulos, su trabajo es realmente notable, y de él ha dicho el Profesor Howard Florey (22): *Lode's work could, in fact, well be a description of some antibiotic investigation of the present day.*»

* * *

Albert Vaudremer, trabajando en el Instituto Pasteur de París, estudió en los comienzos de este siglo la acción de los líquidos de metabolismo de diversos mohos, pero especialmente del *Aspergillus fumigatus* sobre bacilos tuberculosos virulentos e incluso los empleó en el tratamiento de la tuberculosis humana. De su trabajo *Action de l'extract filtré d'Aspergillus fumigatus sur le Bacille Tuberculeux*, publicado en 1913 (23), reproduzco las siguientes líneas expresivas:

«Depuis 1910, nous avons traité plus de deux cents malades avec les extraits d'*A. fumigatus*; le traitement a été appliqué dans plusieurs hôpitaux et sanatoriums parisiens. Des faits que nous avons observés, on peut conclure à l'innocuité de ces injections qui ne provoquent jamais de réaction fébrile. Parfois même on voit survenir des guérisons inespérées. Dans d'autres cas, on observe une amélioration passagère; mais malheureusement les faits sont encore nombreux où la tuberculose poursuit son évolution.»

Pero no solamente empleó Vaudremer en terapéutica extractos de *A. fumigatus*, sino que maceró durante un mes a 38° bacilos tuberculosos humanos virulentos en el extracto filtrado de dicho moho y observó que este tratamiento les privaba de la tuberculina, de su ácido-resistencia y de virulencia. Con los bacilos así tratados y muertos por el calor preparó emulsiones que fueron empleadas a partir de 1920 con resultados interesantes en el tratamiento especialmente de las tuberculosis quirúrgicas.

El 10 de julio de 1954, en compañía del micólogo norteamericano doctor Ch. Tom y del Dr. Shibata, de la Universidad de Tokio, estuve en el domicilio que fué del Dr. Vaudremer, en París, y allí, en el despacho, su hija, Mlle Andrea, nos mostró una placa en homenaje a su padre —fallecido en 1943—, en la cual expresaban su gratitud y con sus firmas los enfermos tuberculosos curados o mejorados con su tratamiento, y esa era la mejor prueba de que Vaudremer no había pasado inútilmente por este valle de lágrimas, pues había contribuido a aliviar el dolor a sus semejantes, y en aquella placa estaba la evidencia con la gratitud de los beneficiados con su tratamiento.

* * *

Es curiosa la circunstancia de que Leonard Colebrook, colega de Fleming y discípulo como éste de Almroth Wright, publicara en 1915 un trabajo realizado en el Inoculation Department del St. Mary's Hospital (24), dando cuenta de que en medio de cultivo sólido el *meningococo* era inhibido por el *estreptococo* y por el *neumococo*, y que también el filtrado de un cultivo de este último microbio era bactericida frente al *meningococo*. Del trabajo de Colebrook transcribo las siguientes líneas que también son interesantes:

«... it would seem probable that the principle of bacterial antagonism will be found to have other, and perhaps therapeutically useful, applications in the wide field of microbial infections.»

* * *

Aunque ya en 1890 G. Gasperini, trabajando en el Instituto de Higiene de la Universidad de Pisa, había observado que el actinomiceto *Streptothrix Foersteri* era capaz de desarrollarse sobre bacterias y mohos digiriendo sus membranas celulares, y en 1917 R. Greig Smith observó el efecto antagonista de *Streptothrix* del suelo frente a ciertas bacterias, debemos considerar al Profesor Rudolph Lieske, de la Universidad de Heidelberg, como el primer investigador que realizó un estudio experimental detenido sobre la acción bacteriolítica de los *Actinomicetos* frente a determinadas células bacterianas vivas o muertas incorporadas a un medio a base de agua y agar, y sobre cuya superficie se siembra el *Actinomiceto*.

En 1921, Lieske publicó su *Monografía sobre Actinomicetos* (25), en la cual hay un capítulo titulado «*Die Einwirkung von Strahlenpilzen auf das Wachstum anderer Mikroorganismen (Antagonismus)*» y en él se especifica que los *Strahlenpilze* (*Actinomicetos*) segregan sustancia específica, activa, extracelularmente, produciéndose alrededor de la colonia del *Actinomiceto* zona de inhibición donde las bacterias ensayadas mueren y se lisan.

Lieske, impresionado con sus observaciones, llegó a pensar en que los agentes responsables de esa lisis bacteriana pudieran tener gran significado biológico en la naturaleza y además podrían tener aplicaciones terapéuticas, y en el capítulo dedicado a «*Die Auflösung von Bakterien durch Strahlenpilze (Bakteriolyse)*» se puede leer en la página 143 lo siguiente:

«*Ob die bakteriolytischen Enzyme der Strahlenpilze einmal von therapeutischer Bedeutung werden können, ist fraglich, aber immerhin nicht aus geschlossen. Die grossen Erwartungen, die man auf die Pyocyanase, den entsprechenden Stoff des Bacterium pyocyanum gesetzt hat, sind leider bisher nicht erfüllt worden. Dass mit den Enzymen der Strahlenpilze, die jedenfalls eine bedeutende bakterizide Wirkung haben, bei Anwendung geeigneter Methoden bessere Ergebnisse erzielt werden können als mit Pyocyanase, ist keineswegs unmöglich.*»

Con independencia de las investigaciones de Lieske, André Gratia y Sara Dath trabajando en el Instituto Pasteur de Bruxelles, redescubrieron en 1924

(26) el poder bacteriolítico de los actinomicetos y observaron que una placa de estafilococo expuesta al aire se contaminó con un *Streptothrix blanco*, el cual una vez aislado se desarrolló perfectamente en suspensiones en agua de microbios, tales como *estafilococo* o *bacilo piociánico*, y a los cuales disolvió completamente. De su trabajo transcribo las siguientes líneas:

«Il doit (se refieren a su *Streptothrix*), vraisemblablement, intervenir dans la destruction des Bactéries sur le globe et représenter un chaînon naturel du cycle de la matière vivante.»

Gratia et Dath en otro trabajo, «*Moisissures et microbes bactériophages*», publicado en 1925 (*), refieren (27) que:

«D'une culture contaminée de charbon et complètement clarifiée nous avons retiré une variété de *PENICILLIUM GLAUCUM* dissolvant la Bactériidie charbonneuse.»

En ese trabajo señalan también que su *Streptothrix*, además del *estafilococo* y del *b. piociánico*, disuelve a otros microbios como el *vibrión colérico*, diversas bacterias saprofitas y que dicha lisis se opera merced a un agente lítico muy activo y difusible que se halla presente en los cultivos en caldo de dicho *Streptothrix*.

Gratia y colaboradores sacaron partido de esa acción lítica para preparar sus *mycolisats*, obteniéndolos haciendo actuar el *Streptothrix* sobre emulsiones en agua destilada de las bacterias muertas por el calor. Esos *mycolisados* los filtraban por bujía Chamberland, y como conservaban todo el poder antigénico de las suspensiones de bacterias muertas, pero no tratadas, y con la ventaja de ser mucho menos tóxicas, las emplearon en terapéutica.

En el mismo año, 1928, en que Fleming descubrió la penicilina, publicaron Papacostas y Gaté su documentado libro «*Les Associations Microbiennes-Leurs Applications Thérapeutiques*», y al cual en la época en que fué publicado no se le prestó toda la atención que merecía el enorme esfuerzo y la gran labor de sus autores que analizan más de 500 referencias bibliográficas.

Transcribo de la Introducción de ese libro, página 5, el siguiente párrafo:

«Comme on le voit, le champ à cultiver est très vaste, et la moisson à venir, riche en promesses. Cette considération n'impliquait-elle pas que le moment était opportun pour un inventaire complet de ce que nous ont légué, dans cet ordre d'idées, les expérimentateurs qui nous ont devancés?»

Y refiriéndose al mecanismo de la antibiosis señalan, que está ligado en la mayoría de las veces a la secreción por ciertas bacterias de productos nocivos para otras especies.

* * *

He pasado revista a los trabajos de los precursores que me han parecido más interesantes, y resumiendo la situación antes del descubrimiento de la penicilina llegamos a la conclusión de que: *Numerosos investigadores habían observado fenómenos de antagonismo y de antibiosis entre bacterias, y entre bacterias y mohos, y entre mohos, e incluso algunos habían vislumbrado el alcance que pudieran tener esos fenómenos y de hecho se habían empleado*

(*) La referencia bibliográfica sobre este trabajo me la facilitó el Prof. M. Welsch de la Universidad de Liège, que en 1937 designó con el nombre de *Actinomycetine* al filtrado de un cultivo en caldo de *Actinomyces* (*Streptomyces*) *albus* G. y que hoy se estima es un complejo bacteriolítico en el cual entran: la *actinozima*, el sistema estafilolítico, un agente estreptolítico y dos agentes pneumolíticos.

WELSCH, MAURICE: *Activités Bactériolytiques des Microorganismes*. Ergebnisse der Mikrobiologie Immunitätsforschung und Experimentellen Therapie. Dreissigster Band, páginas 217-279 (1957).

con finalidad terapéutica extractos de bacterias y de mohos, y la actividad bacteriolítica de ciertos Actinomicetos había sido observada y se había pensado en su posible utilidad terapéutica, y la actividad lítica de *Streptothrix* había sido empleada por Gratia y colaboradores para preparar sus micolisados.

Permitidme, antes de entrar en el descubrimiento de la penicilina, que rinda mi modesto homenaje de admiración y de gratitud a esa pléyade de investigadores que a pesar de su labor heroica no pudieron en muchos casos llevar a feliz término sus trabajos. Algunos de ellos no fueron comprendidos por sus contemporáneos y varios tuvieron la sagacidad y la intuición para vislumbrar la trascendencia de sus observaciones y hasta para pensar en sus posibles repercusiones terapéuticas. Fueron, sin duda alguna, los *precursores* ante los cuales debemos inclinarnos con el mayor respeto, porque con escasos recursos, con grandes dificultades técnicas y económicas, lucharon con entusiasmo y sin desmayo y descubrieron hechos nuevos, interesantes y en ocasiones trascendentales. Con demasiada frecuencia los *precursores* son olvidados, pero los que nos dedicamos a la docencia tenemos el deber de presentar su obra y de darlos a conocer destacando todo el mérito de la aportación individual de los que sacrificaron y consagraron su vida de trabajo a la búsqueda de la verdad y, por ende, al progreso universal.

DESCUBRIMIENTO DE LA PENICILINA Y SU DESARROLLO

«It is characteristic of science that discoveries are rarely made except when people's minds are ready for them.»

LORD RUTHERFORD

«Dans les champs de l'observation le hasard ne favorise que les esprits préparés.»

L. PASTEUR

Todo ha sido extraordinario y providencial alrededor de la penicilina, y todas las etapas de su desarrollo han sido trascendentales.

En un pequeño laboratorio, en el St. Mary's Hospital, en Londres, en el otoño de 1928, Alexander Fleming realizó el descubrimiento más bello de nuestro siglo, y de tan enorme alcance que casi parece un milagro: *el que un moho vulgar produce una sustancia con la cual se pueden salvar vidas humanas.*

Fué Fleming bacteriólogo-inmunólogo que consagró muchos años al estudio de la *fagocitosis, inmunización mediante vacunas y estudio bacteriológico de las heridas de guerra.* Sus escrupulosas y pacientes investigaciones sobre la *acción de los antisépticos sobre las bacterias y sobre los leucocitos,* iniciadas en 1915 y proseguidas sin interrupción, y su obsesión y su anhelo por descubrir una sustancia que no interfiriese con la actividad de los leucocitos y tuviera en cambio gran actividad antibacteriana, y que pudiera ser eficaz para el tratamiento de las infecciones bacterianas, así como su importantísimo descubrimiento de la *lisozima,* realizado en 1921, prepararon su espíritu para el gran momento de su vida: *el descubrimiento de la penicilina, que le condujo a la inmortalidad.*

El 21 de diciembre de 1945 visité (28) por primera vez al Profesor Fleming en su Laboratorio, y en esa ocasión puso él en mis manos su *placa histórica.* La emoción que me embarga me hace guardar silencio. El también calla. Yo medito en que aquel hombre lleno de bondad, humildad, sinceridad y encantadora modestia, con su mente preparada por muchos años de entrenamiento en investigaciones relacionadas con la acción de los antisépticos sobre las bacterias, y con su gran capacidad para asombrarse, y con su curiosidad sin límites, captó inmediatamente la trascendencia de aquel fenómeno de antagonismo natural entre un moho del género *Penicillium* y determinada estirpe de *Estafilococo,* microbio causante de diversos tipos de infecciones. Su perspicacia y su lucidez mental le llevaron a la conclusión de que algo muy importante ocurría en aquella placa, que ahora tenía yo en mis manos, y que era necesario aclarar, y su gran entusiasmo por descubrir la verdad le movió a no dejar de lado aquella placa con colonias de estafilococo y que un moho intruso

había contaminado, hasta dilucidar aquel drama biológico, ya que, alrededor de la colonia del *Penicillium contaminante*, las colonias del estafilococo eran más pequeñas y estaban en franca lisis, y como consecuencia de haberle prestado la debida atención y después de realizar escrupulosas y pacientes investigaciones durante varios meses, pudo llegar a la conclusión de que aquel moho vertía a los medios de cultivo algo que era difusible, que inhibía específicamente el crecimiento de determinadas bacterias patógenas, tales como: estafilococo, estreptococo, neumococo, gonococo, bacilo diftérico, etc., y que no inhibía el crecimiento de otras, tales como: el *Haemophilus influenzae*, el colibacilo, etc., que no era tóxico y que no interfería con la actividad de los leucocitos.

Fleming era ya entonces el primer experto en el mundo en el estudio de la acción de los antisépticos sobre las bacterias y sobre los leucocitos. Había realizado millares de ensayos de este tipo y con el mismo resultado: siempre los antisépticos tenían actividad antileucocitaria más marcada que su acción antibacteriana, por lo que en la mayoría de las ocasiones su empleo resultaba perjudicial. En su larga experiencia en este campo de la investigación, esta era la primera vez que hallaba algo que estaba dotado de una gran actividad antibacteriana y desprovisto de acción perjudicial sobre los leucocitos. Por fin parecía haber dado con el antiséptico soñado: no tenía efecto perjudicial sobre los leucocitos y revelaba gran actividad frente al estafilococo y al estreptococo hemolítico, que empleó como gérmenes de prueba en ensayos realizados en *slide cells* en sangre humana desfibrinada.

Fleming aplicó el caldo en el cual su *Penicillium* había vertido el agente activo sobre zonas infectadas y observó que no era irritante, no era tóxico y en algunos casos obtuvo buenos resultados. Pero pronto se percató de que el líquido de metabolismo del moho, al cual llamó penicilina, era muy complejo, pues contenía, aparte de las sustancias del caldo, las resultantes de la actividad del moho, y que era importante aislar la sustancia activa antes de proceder racionalmente a ensayos terapéuticos de envergadura. Y se puso a ello con la colaboración de dos jóvenes graduados en medicina, Mr. Stuart Craddock y Mr. Frederick Ridley (*), a quienes alude Fleming en su trabajo príncipe, donde también alude a Mr. La Touche, el micólogo que identificó como *Penicillium rubrum* al moho que contaminó la placa.

Los intentos de aislamiento no tuvieron éxito, pero las conclusiones de las investigaciones realizadas resultaron ser tan extraordinarias para un investigador de la experiencia de Fleming, que no vaciló en darlas a conocer, y el 10 de mayo de 1929 entregó para la publicación su trabajo titulado «*On the antibacterial action of cultures of a Penicillium, with special reference to their use in the isolation of B. influenzae*» (que se publicó en *The British Journal of Experimental Pathology*, vol. X, pág. 226, 1929), y en el cual, refiriéndose a su penicilina, dice así:

(*) Los doctores Ridley y Craddock, a pesar de no ser químicos, hicieron observaciones realmente interesantes que no fueron publicadas. Yo las he estudiado en el libro de Laboratorio del Dr. Craddock y entre ellas debo mencionar que llegaron a la conclusión de que el pigmento amarillo producido por el moho era diferente de la sustancia antibacteriana; que sospecharon —aunque no lo demostraron— que había un enzima elaborado por bacterias contaminantes que destruía la sustancia antibacteriana del *mould juice* —como entonces le llamaban— y que en sus concentraciones del caldo metabolizado por el moho llegaron a obtener un material que era activo aún diluido varios miles de veces.

«It is suggested that it may be an efficient antiseptic for application to or injection into areas infected with penicillin sensitive microbes.»

No se le prestó a este luminoso trabajo de Fleming la atención que merecía, pero el Maestro siguió trabajando con fe, y en 1931 vuelve a insistir (29) y hace este vaticinio:

«... it is quite likely that it (se refiere a su penicilina) or a chemical of a similar nature, will be used in the treatment of septic wounds»; y al año siguiente (30) escribe así:

«It has been used on a number of indolent septic wounds and has certainly appeared to be superior to dressings containing potent chemicals.»

Y en el año 1936, con motivo del Segundo Congreso Internacional de Microbiología, celebrado en Londres, vuelve a hacer una demostración de la acción antibacteriana selectiva de su penicilina (31).

* * *

El Profesor Harold Raistrick, autoridad mundial en Bioquímica de Mohos, que ha aislado con sus colaboradores, en el Departamento de Bioquímica del *London School of Hygiene and Tropical Medicine*, decenas de sustancias como productos metabólicos de mohos, precisando su estructura química e incluso sintetizando muchas de ellas, en el año 1930 se interesó en el moho de Fleming. Por entonces estudiaba el pigmento amarillo del *Penicillium chrysogenum*, y al recibir un cultivo del moho de Fleming y realizar con él determinadas investigaciones, observó que el pigmento que producía era idéntico al del *P. chrysogenum* y también que su aspecto microscópico era parecido al de esa especie, lo cual le indujo a pensar que podría estar mal identificado el moho que contaminó la histórica placa, y para resolver la duda lo envió en consulta al doctor Charles Thom (32), primera autoridad mundial en *Penicillium*, quien resolvió la consulta señalando que *no era el Penicillium rubrum, sino que se trataba de una estirpe próxima al Penicillium notatum, dentro de la serie del Penicillium chrysogenum*, y así quedó identificado correctamente por Thom el moho que contaminó la placa de Fleming, lo cual tuvo más adelante (1941-45) gran importancia para orientar las investigaciones encaminadas al descubrimiento (33) de estirpes de *Penicillium notatum-chrysogenum*, más productoras de penicilina.

En 1932, Raistrick y sus colaboradores, Clutterbuck y Lovell, publicaron un trabajo (34), en el cual llaman *penicilina* a la sustancia antibacteriana de Fleming y señalan que el *P. notatum* de Fleming puede cultivarse en medio sintético a base de glucosa y sales inorgánicas, y en el cual produce dicho moho tanta o más penicilina que en los medios a base de caldo, lo cual era de gran importancia práctica, ya que el aislamiento de dicha sustancia a partir de un medio sintético, de composición bien conocida, sería mucho más fácil que a partir del caldo. También dieron cuenta de que la *crisogenina* (pigmento amarillo) era diferente de la sustancia antibacteriana y que, acidificando el líquido metabolizado por el moho hasta un pH de 2, la sustancia activa podía extraerse con éter.

Raistrick y colaboradores obtuvieron preparados más o menos activos, pero cuando se marchó Lovell, que hacía los ensayos bacteriológicos, como ni Raistrick ni Clutterbuck estaban legalmente autorizados para realizar experiencias con animales, y como por otra parte los bacteriólogos del *London School of Hygiene and Tropical Medicine*, que sí podían hacer ese tipo de investigaciones, no mostraron el menor interés por llevarlas a cabo, Raistrick y Clut-

terbuck no prosiguieron los trabajos de concentración y aislamiento de la penicilina y se consagraron a estudiar otras sustancias del metabolismo de los mohos. De persistir en la investigación no dudo de que Raistrick hubiera aislado la penicilina.

El nombre de Raistrick será recordado siempre con respeto y admiración cuando se hable de «*Bioquímica de mohos*», y a mi entender su *aportación a la historia de la penicilina*, aunque no se vió coronada con el aislamiento de dicha sustancia, *fué sin embargo de importancia como base para las investigaciones posteriores.*

* * *

El 14 de noviembre de 1945, con motivo de la sesión científica celebrada en Baltimore por la *Maryland Association of Medical and Public Health Laboratories*, tuve la oportunidad de entrevistarme con el Dr. Roger D. Reid, que fué el primero en interesarse en los Estados Unidos en la sustancia antibacteriana producida por el *P. notatum* de Fleming. Por su importancia reproduzco lo que Reid me dijo:

«Yo estuve interesado en la acción antibacteriana de los filtrados del *Penicillium notatum* desde 1930 hasta 1935, pues creía que se podrían utilizar para el tratamiento de las *mastitis* del ganado cuando eran producidas por gérmenes sensibles a la penicilina.»

«A la Dirección del *Agricultural Experimental Station del Pennsylvania College*, centro donde yo trabajaba, expuse mi deseo de desarrollar como tema de tesis doctoral el tratamiento de las *mastitis* con filtrados del moho de Fleming, pero ni en el Director ni en el Decano de ese centro hallé acogida a mis sugerencias. No tuve, pues, por parte de ellos ningún estímulo, sino que por el contrario me prohibieron que realizara como tema de mi tesis doctoral esas investigaciones que proyectaba.»

He aquí, pues, la explicación del por qué el Dr. Roger D. Reid, que investigó sobre la penicilina (35), tuvo que desviarse a otro tema para preparar su tesis doctoral. Si le hubieran permitido llevar a cabo su programa no dudo que hubiera descubierto que los líquidos metabólicos producidos por la estirpe del *P. notatum* de Fleming tenían cierta eficacia en el tratamiento de las *mastitis* producidas por bacterias sensibles a la penicilina, y probablemente ello hubiera despertado interés en otros investigadores por aislar y purificar dicha sustancia y estudiar sus posibilidades terapéuticas sin necesidad de esperar a la publicación en 1940 y 1941 de las trascendentales investigaciones de Florey y colaboradores.

* * *

El 15 de febrero de 1935, el Dr. Gerhard Domagk dió cuenta de que el *prontosil* (clorhidrato del 4'-sulfamil-2,4-diaminoazobenceno) protege a los ratones infectados experimentalmente con dosis mortales de *estreptococo hemolítico*, y simultáneamente se diéron a conocer los primeros casos clínicos de enfermos afectados de infecciones estreptocócicas y curados con dicho medicamento y con ello se abrió dentro de la *quimioterapia*, fundada por Paul Ehrlich, una nueva y fecunda era en el tratamiento de las infecciones bacterianas: *la era de las sulfonamidas.*

Poco después, los esposos Tréfouël, Nitti y Bovet, trabajando bajo la dirección del Profesor E. Fourneau, demostraron que la función azoica a la cual iban ligadas las propiedades colorantes del *prontosil* no era responsable de su actividad antiestreptocócica *in vivo*, ya que *in vitro* estaba dicha sustancia desprovista de esa actividad. Tréfouël y colaboradores también demostraron que la *p-aminobenzenosulfonamida*, que forma parte de la estructura del *prontosil*, era tan eficaz como éste para el tratamiento de la infección experimental

producida en los ratones por el *estreptococo hemolítico*, lo cual significaba un gran descubrimiento por cuanto la síntesis de la *p-aminobenceno sulfonamida* era fácil y no estaba protegida por patentes como lo estaba la síntesis del *prontosil*.

Pocos meses después, en Inglaterra, Colebrook y Kenny, y Buttle y colaboradores, realizaron importantes investigaciones en el campo de la terapia sulfamídica, primero con el *prontosil* y luego con la *sulfanilamida*, y la *quimioterapia antibacteriana* se fué afianzando sobre base firme y sucesivamente se fueron poniendo en evidencia la actividad terapéutica de nuevos productos de síntesis: *sulfapiridina*, *sulfatiazol*, etc.

A partir, pues, de 1936 hay plena evidencia en el campo clínico de que ciertas infecciones bacterianas son susceptibles de ser tratadas con éxito con el adecuado empleo de medicamentos sintéticos del grupo de las sulfonamidas.

Fleming se interesa también por este tipo de sustancias antibacterianas y aporta a la literatura científica sobre este particular varios trabajos de interés, pero no se olvida de su penicilina.

* * *

No dudo de que la afirmación de Raistrick y colaboradores en su trabajo de 1932, cuando dicen «*Penicillin is an extremely labile substance*», desanimara a Fleming en su ilusión porque la sustancia activa de su moho fuera obtenida, pues si Raistrick, con toda su experiencia y toda su autoridad en la materia, no había conseguido aislarla y decía que era muy lábil, ¿qué podría él, que no era químico, hacer para obtener la penicilina en la cual tenía, con fundado motivo, puestas todas sus esperanzas? Sus cuadernos de laboratorio, desde 1935 a 1940, contienen experiencias relacionadas con la penicilina, aparte de otras investigaciones. Yo he tenido la oportunidad de examinarlos y también de conversar con personas a las cuales —mencionaré aquí solamente al Dr. L. B. Holt— había pedido Fleming que trataran de aislar la penicilina, y puedo asegurar también, por datos que he recogido, que a los que le visitaban durante el período 1930-1940 siempre les mostraba su moho y les daba a conocer el empleo del líquido que contenía penicilina para el aislamiento de bacterias no sensibles a esa sustancia y les transmitía su entusiasmo y las esperanzas que él tenía puestas.

Fleming estaba seguro de que sus observaciones eran correctas y que lo que producía su moho debía ser algo muy diferente de los demás antisépticos conocidos, ya que no interfería con la actividad de los leucocitos. El confiaba, pues sabía que su verdad, es decir, su descubrimiento, tenía luz propia y que, aunque quedase arrinconado por el momento, se abriría camino y resplandecería un buen día con su pristina pureza.

* * *

Antes de analizar la aportación del grupo de Florey me referiré brevemente a las investigaciones de Dubos (36) por cuanto en la historia de los antibióticos tienen un interés extraordinario.

En 1939, René Dubos dió cuenta de haber aislado un bacilo aerobio esporulado (37), el *Bacillus brevis*, con actividad lítica marcada sobre bacterias Gram positivas, como: *neumococo*, *estafilococo*, etc. De los autolizados de ese *B. brevis* obtuvo después dos *polipéptidos* cristalizados: la *gramicidina* y la *tirocidina*, y a la mezcla de ambas sustancias las designó con el nombre de *tirotricina*.

Por fin, después de un período de investigaciones aisladas de más de medio siglo, en el campo de la *antibiosis*, se había conseguido aislar a partir de una bacteria antagonista de otras, sustancias de naturaleza química conocida y al estado cristalino y que poseían actividad antibacteriana selectiva.

De la *Harvey Lecture* que pronunció el Dr. Dubos el 21 de marzo de 1940, reproduzco por su extraordinario interés las siguientes líneas:

«Finally it is permissible to hope that one will also discover in nature microorganisms antagonistic to other types of pathogens and that the active substances by means of which they exert their antagonistic effect will be isolated. These agents may not themselves be effective in the animal body. An understanding of their chemical structure and of the mechanism of their action should, however, give the bacteriologist and the chemist useful information and new compounds for the development of chemotherapy on a rational basis.»

* * *

La providencia dispuso que los investigadores del «*The Sir William Dunn School of Pathology*», en Oxford, Florey, Chain y colaboradores, fueran los que completaran la obra de Fleming y *dieran realidad terapéutica a la Penicilina*.

Florey y Chain decidieron acometer el estudio de la penicilina en 1938, y por lo tanto no influidos por la guerra, que fué iniciada un año después. Tampoco lo hicieron con el propósito de desarrollar un remedio maravilloso para el tratamiento de las enfermedades infecciosas, aunque providencialmente resultó así como consecuencia de sus investigaciones. Lo hicieron movidos por el interés científico para tratar de aislar y averiguar de qué naturaleza química podría ser una sustancia que, según Fleming, estaba dotada de gran actividad frente al estafilococo y otras bacterias y desprovista de toxicidad frente a los leucocitos.

Florey, en 1944 (38), dijo así:

«... the beginning of the work on penicillin had nothing to do with the war, but was initiated before the war as a purely academic investigation.»

Y Chain, en la conferencia que pronunció en Frankfurt (marzo 1954) con motivo del centenario del nacimiento de Paul Ehrlich (39), se expresó así:

«The instability of penicillin reported in Raistrick's work, which was the cause of the difficulties encountered in its isolation, particularly attracted my attention as a biochemist, because it seemed to indicate that the active principle had an unusual chemical structure that was not present in any of the known antibacterial substances. The fact that the principle was active against the staphylococcus, for which at that time no other remedy was known, particularly attracted Florey's interest as a pathologist.»

No pretendo, ya que ello es imposible, en pocas líneas analizar la ingente labor realizada en *The Sir William Dunn School of Pathology* en los años 1939, 40 y 41. Solamente me referiré a algunas experiencias cruciales. Desde el punto de vista de la extracción y purificación de la penicilina, mejoraron la técnica de extracción, acidificando a un pH 2, empleando *acetato de amilo* en lugar del éter que habían empleado Raistrick y sus colaboradores y operando, además, a *temperatura baja* y *tratando la disolución de la penicilina en el disolvente orgánico con disolución alcalina hasta neutralización, de modo a obtener, por ejemplo, la sal sódica de la penicilina, que pasa a la fase acuosa* y ésta se separa de la fase con disolvente orgánico, y el pequeño volumen de la disolución acuosa, que contiene la sal alcalina de la penicilina, les proporcionó por liofilización un *material sólido dotado de gran actividad*

in vitro frente a las bacterias sensibles, y el cual, inyectado a ratones, estaba desprovisto de toxicidad.

He tenido el privilegio de examinar y repasar con el Dr. N. Heatley (que formó parte del equipo de Oxford y estuvo encargado de la producción de penicilina y de su valoración) los detalles de la experiencia crucial, histórica, del 25 de mayo de 1940, que constituyó uno de los ensayos más dramáticos en la Historia de las Investigaciones Médicas.

La experiencia fué planeada para ensayar por primera vez *el efecto protector de la penicilina* y está registrada en cuatro páginas del Libro de Laboratorio de Heatley, y su fotocopia guardo como un tesoro en mis archivos.

Inocularon por *vía intraperitoneal* a ocho ratones, con dosis mortales de *estreptococo hemolítico*, y a cuatro de ellos se les aplicó penicilina por *vía subcutánea* (40). Los cuatro ratones no tratados con penicilina fueron muriendo sucesivamente: el primero a las 12 horas y 57 minutos, y el cuarto a las 16 horas y 28 minutos después de la inoculación. Los cuatro ratones tratados con penicilina sobrevivieron.

El día 13 de abril de 1950 tuve el honor de recibir en mi domicilio al Profesor Florey y habló desde allí para Radio Nacional, y a mi pregunta sobre cuál había sido para él el momento de mayor emoción en sus investigaciones sobre la penicilina, me contestó así:

«It is difficult to say but for me probably the most exciting experiment was that in which it was definitely shown that penicillin, would protect mice against certain death caused by Streptococci.»

La experiencia a que me he referido, aunque realizada con pequeño número de animales fué lo suficientemente significativa para permitir deducir que *la penicilina poseía propiedades quimioterápicas*, y cuando dispusieron de mayor cantidad de penicilina repitieron las experiencias con mayor número de animales y pudieron llegar a la conclusión de que con dosis adecuadas la penicilina actuaba como *agente quimioterápico sistémico frente a las infecciones producidas por Streptococcus pyogenes, Staphylococcus aureus y Clostridium septicum* (41).

Los investigadores de Oxford se hallaban, pues, ante un *potente agente quimioterápico y nada tóxico*. Ellos pudieron medir inmediatamente el alcance de sus experiencias, ya que el *estafilococo* y el *estreptococo* eran gérmenes patógenos causantes de graves infecciones y ambos microbios y el *Clostridium septicum*, los tres sensibles a la penicilina, eran tres de los agentes que con mayor frecuencia provocan infecciones en las heridas de guerra. Era por lo tanto necesario acelerar los trabajos de *producción y purificación* de la penicilina para poder iniciar los primeros ensayos clínicos. Todos cooperaron febrilmente en *The Dunn School of Pathology*, y después de trabajos heroicos para obtener la cantidad de penicilina necesaria, por fin el día 12 de febrero de 1941 se aplicó por primera vez la penicilina a un enfermo grave de infección mixta *estafilocócica-estreptocócica*; la respuesta fué dramática, pero se agotó la penicilina para el día 17 y pocos días después recayó y murió.

Pocos meses después dieron a conocer Florey y sus colaboradores su trabajo príncipe: *«Further Observations on Penicillin»* (*The Lancet*, August, 16, 1941, páginas 177-188), en el cual detallan el proceso de fabricación, extracción y purificación de la penicilina, métodos de valoración, estudio de su acción antibacteriana, estudio farmacológico, así como los primeros éxitos clínicos.

La penicilina que emplearon tenía de actividad 40 u. por mg., o sea, que

no llegaba, por lo que luego se ha sabido, a un 2,5 por 100 de pureza y por lo tanto, aproximadamente, 97,5 por 100 del material empleado eran impurezas, y por ello podemos decir que *fué realmente providencial* que las impurezas no fueron tóxicas, ya que de haberlo sido pudieran haber enmascarado la bondad de la penicilina.

Las primeras experiencias clínicas, revelaron que *la penicilina era agente eficaz quimioterápico sistémico*, ya que podía circular por la sangre y por los fluidos del cuerpo animal y humano, y empleada a dosis adecuadas, en combinación con las defensas orgánicas, podía destruir a los microbios sensibles sin producir daño al organismo.

La labor de los investigadores de Oxford fué una pieza fascinadora de investigación, fruto del esfuerzo cooperativo. Por fin, después de superar muchas dificultades, llegó el triunfo para Florey, Chain, Heatley y demás colaboradores. Ellos completaron la obra de Fleming, confirmando lo que él decía, dando realidad a sus afirmaciones intuitivas y demostrando sin género alguno de duda que la penicilina poseía propiedades quimioterápicas, y así dieron nacimiento con sus primeros éxitos clínicos logrados con la penicilina a una nueva era en la Terapia de las enfermedades infecciosas: *La Era Antibiótica*, que providencialmente surgió cuando más falta hacía, en plena guerra mundial.

El mundo médico, al conocer los trabajos de los investigadores de Oxford, vibra de emoción, y por la radio y la prensa se entera el vulgo de esta nueva conquista sobre el dolor y renace la esperanza en el corazón de muchos enfermos. Y aunque aquellos días son de peligro para Inglaterra, este trascendental descubrimiento de sus científicos constituye un alivio espiritual y consolador al ver que sus hombres de Ciencia siguen trabajando en la Universidad sin desmayo, a pesar de las dificultades, a pesar de los bombardeos y a pesar de la extraordinaria gravedad de aquellos momentos.

Era necesario dar realidad industrial a la penicilina, pero el *P. notatum* era tan perezoso que sólo elaboraba un par de unidades Oxford por cc. y de 100 litros de medio de cultivo metabolizado por ese moho, sólo se recuperaban unas 45.000 unidades en forma de producto sólido.

Uno de los colaboradores de Florey, el Dr. A. G. Sanders, ideó e instaló una planta semi-industrial para la extracción y purificación de la penicilina.

Acudieron pronto a Oxford los técnicos de las firmas farmacéuticas inglesas de más prestigio para informarse directamente del proceso de preparación y aislamiento de la penicilina y para ofrecer su cooperación. Y así empezó en Inglaterra la industrialización de la penicilina en la medida que permitían las circunstancias de la guerra y legión de investigadores en los laboratorios de las Universidades y de las firmas farmacéuticas se consagraron a mejorar los rendimientos de los cultivos, a perfeccionar las técnicas de extracción, a proseguir la purificación de la penicilina y al estudio de su estructura química, métodos de valoración en los líquidos biológicos, dosificación y pautas de tratamiento.

Florey, percatado de que la penicilina sería el arma humanitaria que prestaría a su Patria grandes servicios y comprendido que por las dificultades de la guerra las posibilidades de la industria británica eran pequeñas en relación con las cantidades de ese medicamento que estimaba serían necesarias, y con urgencia, para el tratamiento de las infecciones de las heridas de guerra, en julio de 1941, bajo los auspicios de la *Rockefeller Foundation*, acompañado

de su colaborador Dr. N. G. Heatley, que llevaba consigo el moho productor de penicilina, se trasladaron a New York. El Profesor Fulton, de la Universidad de Yale, les puso en contacto con el Profesor Dr. Ross Harrison, *Chairman of National Research Council*, el cual les aconsejó que se entrevistasen con el doctor Charles Thom. Al llegar a Washington se pusieron en contacto con el Dr. L. H. Weed, mas como éste no estaba muy familiarizado con mohos y con productos de su metabolismo telefoneó al Dr. Ch. Thom y le dijo así (42): «*I have a couple of Englishmen with an idea. They call it penicillin. Did you ever hear of this and of P. notatum?*» Thom contestó a Weed que sí y que tenía interés por el tema de trabajo que habían llevado Florey y Heatley a los Estados Unidos, y entonces Weed dijo a Thom: «*Take them by your hands and do with them what you please.*»

El día 9 de julio, muy de mañana, el ilustre micólogo Dr. Ch. Thom fué a recogerles al hotel a Florey y Heatley y les condujo a su Laboratorio en el Departamento de *Soil Microbiology* en Beltsville. Florey entregó a Thom una copia del trabajo que se iba a publicar dentro de pocos días en *The Lancet* y le presentó una pequeña cantidad de penicilina y los cultivos del *P. notatum*. Thom leyó las primeras seis páginas del trabajo y no siguió adelante con la lectura, y formuló esta pregunta a Florey: «*¿Cuál es vuestro deseo Profesor Florey?*» Contestando éste así: «*Here is a stuff which can go into the blood stream and wont kill the patient, but can save him from some kind of septicæmia.*»

Como Thom ya conocía el trabajo original de Fleming, publicado en 1929, y el de Raistrick y colaboradores, publicado en 1931, al oír las palabras terminantes de Florey no vaciló un momento, tomó una determinación rápida y le dijo a Florey: «*Deben ustedes ir lo antes posible a Peoria al N. R. R. L. (Northern Regional Research Laboratory) del Departamento de Agricultura donde están los expertos en fermentaciones y con medios adecuados para llevar este problema a feliz término. ¿Me autoriza usted, Florey, a que lo consulte a la Dirección de los Laboratorios en el Departamento de Agricultura?* Y ante la afirmación de Florey, Thom telefona a Washington, pero como el Director Dr. Herrick no estaba, se puso al habla con el Dr. Wells y le dijo así: «*I have two Englishmen here with an idea that Herrick and May would give their heads to get it.*»

Conocía el Dr. Thom muy bien la psicología de sus amigos Herrick y May, expertos en fermentaciones producidas por mohos, y sabía que ese asunto no lo dejarían escapar de las manos.

Florey y Heatley almorzaron con Thom, y a las dos de la tarde estaban los tres en Washington en la oficina del Dr. Wells. Thom hizo la presentación así:

«*Aquí están los hombres que han aislado la sustancia que Fleming descubrió en 1929 y ellos han demostrado que puede pasar a la sangre sin producir ningún daño y que puede salvar a enfermos con determinados tipos de septicæmia...*»

Wells llamó a su mecanógrafa y redactaron, con la supervisión de Thom, un telegrama histórico dirigido al Dr. O. E. May, Director del N. R. R. L., en Peoria, dándole cuenta de los deseos de Florey y rogándole que le dieran facilidades para cultivar en escala piloto el *P. notatum*, productor de penicilina.

Thom, con su clara visión, se había dado cuenta de que el proyecto que llevaban los investigadores británicos solamente podría ser coronado por el

éxito en el N. R. R. L., donde estaban congregadas las primeras autoridades de los Estados Unidos en materia de fermentaciones producidas por mohos y que, por lo tanto, eran los más capacitados para llevar a cabo la difícil empresa de industrializar la penicilina.

También estaba en el N. R. R. L. el Dr. Kenneth B. Raper, el discípulo predilecto y colaborador de Thom, que tenía a su cargo la conservación, estudio y custodia de la famosa colección de mohos que con tanto entusiasmo había reunido Thom en sus 40 años de pacientes investigaciones. El feliz acierto del que fué en vida mi amigo, Dr. Ch. Thom, es digno de consignarlo por cuanto el N. R. R. L. ocupa lugar preferente en la historia del desarrollo industrial de la penicilina como centro donde se realizaron las investigaciones preliminares para la obtención de penicilina por el método de cultivo sumergido, donde se realizó una extraordinaria labor de selección de estirpes de *P. notatum* y de *P. chrysogenum*, productores de penicilina, donde se mejoró el medio de cultivo por adición de C. S. L. (*corn steep liquor*) y lactosa, donde se aislaron nuevos tipos de penicilinas, y donde, en suma, se realizaron gran parte de las investigaciones que hicieron posible la fabricación en gran escala de dicho medicamento.

Florey y Heatley se dirigieron a Peoria, y en el N. R. R. L. fueron recibidos por el Dr. Robert D. Coghill, jefe de la sección de fermentaciones, en la cual trabajaban bajo su dirección una docena de destacados investigadores, entre ellos: A. J. Moyer, K. B. Raper y F. Stodola. Coghill recibió la información de Florey y Heatley, se entusiasmó con el tema e inmediatamente entró en actividad al *equipo de Coghill*.

Heatley se quedó tres meses en el N. R. R. L. para iniciarles en los métodos de extracción y purificación y valoración de la penicilina, y luego pasó a colaborar con los Laboratorios Merck en Rahway.

Florey, antes de regresar a Oxford, visitó al Profesor Dr. N. A. Richards, Presidente del *Comité de Investigaciones Médicas*, órgano filial del *Office of Scientific Research and Development*, informándole de los resultados logrados con el nuevo medicamento y de las grandes esperanzas que en él tenía puestas como resultado de las investigaciones realizadas con sus colaboradores, y resaltándole la imperiosa necesidad de que en los Estados Unidos se diera el impulso industrial en gran escala a la fabricación del nuevo medicamento.

El Dr. N. A. Richards, Profesor de Farmacología en la Universidad de Pensilvania (Filadelfia), escucha con emoción y capta inmediatamente la trascendencia y el alcance del ruego de Florey y comprende la importancia que puede tener la participación que le está reservada a la industria farmacéutica norteamericana en esta realización grandiosa de dar realidad a un nuevo medicamento que según todos los indicios iba a significar una revelación en la terapéutica de las enfermedades infecciosas.

El Profesor Richards reunió el día 4 de octubre de 1941 en la oficina del doctor Vannevar Bush, y con asistencia de éste, a los Dres. Thom y Weed y a los Dres. Major, Harrup, Subba Row y Kane, representantes éstos últimos respectivamente de los Laboratorios Merck, Squibb, Lederle y Pfizer, y les expuso el tema que le había planteado el Profesor Florey, considerándolo él, personalmente, como del mayor interés y de la máxima urgencia. Sus razonamientos convencieron a los asistentes y esas firmas farmacéuticas mencionadas, y sucesivamente todas las restantes grandes firmas de los Estados Unidos, se

entregaron con intensidad a investigar sobre la penicilina, su producción, su purificación y sus propiedades y a planear y construir y poner en marcha grandes fábricas invirtiendo en ello muchos millones de dólares.

En esa primera reunión, y según me comunicó el Dr. Thom, su consejo fué el siguiente :

«Es necesario poner a un micólogo a aislar el mayor número posible de estirpes de Penicillium de la serie notatum-chrysogenum y ver cuáles son las mejores desde el punto de vista de la producción de penicilina. No limitarse en las investigaciones de producción de esa sustancia al moho que contaminó la placa de Fleming, porque no hay uniformidad en el mundo biológico y cada aislamiento hay que ensayarlo separadamente por cuanto puede ser fisiológicamente diferente.»

Y siguiendo el consejo del Dr. Thom, hacia finales de 1942 un programa amplio de investigación en el aislamiento y selección de estirpes más productoras de penicilina que la original de Fleming estaba siendo realizada por el doctor K. B. Raper y Miss Dorothy Fennell en el N. R. R. L. de Peoria. Observaron que el *P. notatum* NRRL núm. 832, de la colección del Dr. Thom, daba buenos rendimientos en cultivo sumergido, pues en el medio a base de C.S.L. y lactosa introducido por el Dr. Moyer, producía hasta 120 u.o. por centímetro cúbico, en tanto que el *moho de Fleming*, en cultivo sumergido y en idénticas condiciones, solamente producía de 8 a 12 u.o. por cc. Ese *P. notatum* 832 fué la primera estirpe empleada para la producción industrial de penicilina en cultivo sumergido, pero pronto fué superada. De un fruto de cantaloupe (especie de melón) Miss Dorothy Fennell (colaboradora del doctor Raper) aisló un *Penicillium chrysogenum* que se le catalogó así : NRRL 1951, y del cual obtuvo Raper la variante NRRL 1951 B 25, capaz de producir en cultivo sumergido hasta unos 150 u.o. por cc. Esa estirpe NRRL 1951 B 25, fué el punto de partida para la obtención, en la *Carnegie Institution*, por el doctor Demerec, por *mutación con rayos X*, de la estirpe X 1612, que producía en cultivo sumergido unas 400 u.o. de penicilina por cc. y a partir de ese mutante X 1612, los Dres. Backus y Stauffer, sometiéndole a la *acción mutagénica de los rayos U. V.*, obtuvieron la estirpe Q 176, que producía unas 900 u.o. de penicilina por cc., y de esta estirpe Q 176, años después (43), obtuvieron, esos mismos investigadores de la Universidad de Wisconsin, con el empleo de los rayos U.V. y de la mostaza nitrogenada, *metil-bis* (β -cloroetilamina), los mutantes de *P. chrysogenum* llamados *pigmentless*, y algunos de los cuales son capaces de producir de 6.000 a 7.000 unidades internacionales de penicilina por cc. de caldo nutritivo y que son los que se utilizan actualmente en las fábricas de penicilina.

El esfuerzo de producción de las firmas farmacéuticas norteamericanas fué sometido a un plan oficial de coordinación, y para ello se dictaron disposiciones que habían de regular la bondad del medicamento; y para la distribución de la penicilina para los ensayos clínicos se constituyó un comité, presidido por el Dr. Chester Keefer, que fué dando instrucciones para su empleo y emitió en distintos momentos informe sobre los resultados clínicos y sobre las pautas a seguir y las enfermedades en las que debía o no debía aplicarse la penicilina. Recordemos que fué en los Estados Unidos donde se descubrió la eficacia de la penicilina para el tratamiento de las infecciones producidas por el *gonococo* (Herrell y colaboradores), y en el tratamiento de las

sifilis (Mahoney y colaboradores), y en el tratamiento de la *endocarditis bacteriana subaguda* (Dawson y colaboradores y Loewe).

Merece especial mención en las investigaciones clínicas el Dr. M. H. Dawson y sus colaboradores, Dres. Gladys L. Hobby, Karl Meyer y Eleanor Chaffee, de la Columbia University (N. Y.), pues fueron los primeros que se interesaron en los Estados Unidos (inmediatamente después de la publicación del primer trabajo de los de Oxford) en la producción, aislamiento, estudio de sus propiedades antibacterianas, protección de animales y primeros ensayos clínicos; y su primer trabajo, «*Penicillin as Chemotherapeutic Agent*», lo dieron a conocer en mayo de 1941 con motivo de la *Thirty Third Annual Meeting de la American Society for Clinical Investigation* (44).

El Gobierno norteamericano nunca tomó tanto interés por un descubrimiento de trascendencia médica como en el caso de la penicilina, y dió toda clase de facilidades y estimuló la producción, concedió permisos para las nuevas fábricas, dando prioridad al material de urgente necesidad y facilidades a las empresas para amortizar el capital invertido.

Jamás una industria invirtió tantos millones de dólares en tan poco tiempo, y todo ello para obtener unos pocos kilogramos de una sustancia cuya composición era entonces ignota, siendo también desconocido el mecanismo biosintético por el cual el moho la elaboraba, y bien entendido que tuvieron que resolver sobre la marcha infinidad de dificultades técnicas: esterilización de grandes masas de medios de cultivo, esterilización del aire que debía penetrar en los fermentadores, técnicas de extracción y purificación, liofilización del producto final, que además debía ser estéril y desprovisto de pirógenos, etc.

Rindamos nuestro tributo de admiración y de gratitud al Dr. Charles Thom, porque consagró su vida al estudio de los *Penicillium* e identificó correctamente al moho que contaminó la histórica placa y porque guió tan sabiamente a Florey hacia el N. R. R. L.; al Dr. R. D. Coghill y sus colaboradores en el N. R. R. L. del Departamento de Agricultura en Peoria, por su aportación investigadora brillante; al Profesor N. A. Richards, que supo convencer a la industria farmacéutica norteamericana para que acometiera la fabricación en gran escala de la penicilina; al Profesor Ch. Keefer, que, con tanto acierto y tacto, dirigió y coordinó el trabajo experimental clínico, que confirmó y amplió todas las esperanzas puestas en la penicilina por Fleming y por Florey y colaboradores, y también a tantos y tantos micólogos, bacteriólogos, genetistas, químicos, ingenieros y técnicos norteamericanos, que con su esfuerzo cooperativo colosal dieron realidad industrial y pusieron a disposición de la Humanidad el extraordinario medicamento que tantas vidas ha salvado.

* * *

No es mi propósito analizar el desarrollo histórico de las investigaciones encaminadas a dilucidar la estructura química de la penicilina. Señalaré, sin embargo, que se consagraron a dicho tema los bioquímicos, químicos orgánicos, físico-químicos y analistas más competentes de Inglaterra y de los Estados Unidos, y que se elevaron a varios centenares los trabajos de investigación que realizaron. Sirvieron de intermediario entre los investigadores británicos y norteamericanos el «*Medical Research Council*» en Londres y el «*Committee on Medical Research of the Office of Scientific Research and Development*» en Washington, y todos los informes se mantuvieron en estricto secreto de guerra, lo cual, dicho sea en honor de esos científicos, significó un

hecho extraordinario, ya que estuvieron implicados algunos centenares de investigadores. Todos esos trabajos fueron dados a conocer en 1949 en una obra monumental: «*The Chemistry of Penicillin*» (Princeton University Press.)

Esas investigaciones nos han descubierto nuevos campos de la química orgánica, ya que hubo que estudiar a fondo las *estructuras tiazolidínica, beta-lactámica y oxazolónica*, y como consecuencia de ese esfuerzo de investigación cooperativo entre británicos y norteamericanos alrededor de la estructura de la penicilina, el orgánico, el químico sintético y el analista disponen hoy de técnicas y métodos de síntesis y de análisis totalmente nuevos, los cuales tuvieron que ser ingenierados en relación con los complicados problemas que se iban planteando alrededor de los diferentes productos que surgían en la degradación de la penicilina y en relación con la síntesis de esos productos, así como también de toda la molécula.

Jamás volumen tan considerable y tan valioso de investigación se ha concentrado alrededor de una sustancia o, mejor dicho, *familia de sustancias*, ya que son varias las penicilinas que el *P. notatum* o el *P. chrysogenum*, e incluso otros *Penicillium* y otros mohos de los géneros *Aspergillus*, *Tricophyton*, *Cephalosporium*, etc., son capaces de producir cultivados en medios nutritivos convenientes.

Solamente quiero recordar que fueron los Dres. Abraham y Chain los que iniciaron la difícil empresa de intentar dilucidar la estructura molecular de la penicilina, y que a ellos se sumaron en Oxford el Prof. Sir Robert Robinson y el Dr. Baker, y que otro equipo también brillante fué el del Prof. Sir Ian Heilbron, Dr. A. H. Cook y colaboradores, del *Imperial College of Science and Technology*, en Londres, y que en los Estados Unidos se llevaron a cabo las investigaciones en el *NRRL* por Stodola y colaboradores, así como también en varias Universidades y en los laboratorios de las grandes empresas farmacéuticas, tales como: Merck, Squibb, Pfizer, Eli-Lilly, Parke-Davis, Abbott, Upjohn, etc.

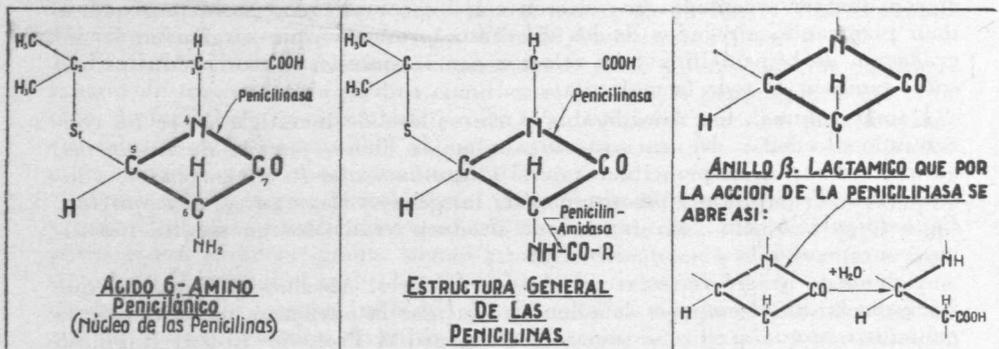
Abraham, Chain, Baker y Robinson (45) obtuvieron por degradación de la penicilina un producto característico: *la penicilamina*, que más adelante resultó ser un nuevo amino-ácido, la *dimetil-cisteína* o β -*mercaptop-valina*, con la particularidad de pertenecer a la *serie D*.

Durante mucho tiempo discutieron los expertos sobre si la penicilina tenía estructura *tiazolidin-oxazolónica* o *tiazolidin-beta-lactámica*. La intervención de los cristalógrafos de Oxford y muy especialmente de la Dra. D. C. Hopkins (entonces Miss Dorothy Crowfoot) fué definitiva, pues estudió los diagramas de difracción obtenidos con rayos X de los cristales de la sal sódica, sal potásica y sal rubídica de la Δ^2 *pentenil penicilina* por el método de las series de Fourier, y con la orientación facilitada por las investigaciones de los orgánicos logró obtener el esqueleto completo y calcular las distancias aproximadas entre los átomos en la molécula, y así quedó definitivamente establecida para la penicilina la *estructura tiazolidin-beta-lactámica*.

La molécula de la penicilina, que es un ácido orgánico monocarboxílico, la podemos considerar formada por: *dos amino-ácidos*, la *D-valina*, que conserva su grupo COOH intacto, y la *L-cisteína*, ligados entre sí formando la estructura *tiazolidin-beta-lactámica* y por un *radical acilo* (R—CO—) copulado al grupo NH (procedente del NH₂ de la cisteína) formando un *enlace amídico* (—NH—CO—). Esa *cadena lateral acilica* (R—CO—) varía según las penicilinas, así: en la *bencilpenicilina* es C₆H₅—CH₂—CO—, en la Δ^2 *pentenilpenicilina* es

$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CO}-$, en la *fenoximetilpenicilina* es $\text{C}_6\text{H}_5-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CO}-$, y en la *cefalosporina N* o *D-4-amino-4-carboxi-n-butil-penicilina* es $\text{HOOC}-\text{CH}(\text{NH}_2)-(\text{CH}_2)_3-\text{CO}-$.

El *anillo betalactámico* formado por cuatro miembros (véase grupo de fórmulas) es poco estable y es susceptible de abrirse por la acción de diversos reactivos, de los cuales mencionaré la *penicilinasas*, enzima descubierto por Abraham y Chain en 1940 (46), producido por diferentes bacterias y que cataliza la incorporación de una molécula de agua a la ligadura $-\text{N}-\text{CO}$ en la



estructura betalactámica y la rompe, produciéndose un ácido bibásico, el ácido peniciloico, correspondiente a la penicilina empleada, y que está desprovisto de actividad antibacteriana. Hoy se conoce otro enzima que es capaz de romper el enlace amídico de las penicilinas, y me ocuparé de él más adelante.

La síntesis de la penicilina fué objetivo de varios grupos de investigación. El ácido peniciloico no era demasiado difícil de obtenerse, pero lo insuperable era privarle a ese ácido de una molécula de agua precisamente entre su NH y el segundo grupo COOH, y con ello se formaría el *anillo betalactámico*.

El 8 de noviembre de 1946 publicaron en *Science*, Vincent du Vigneaud y colaboradores, de la Universidad de Cornell, un trabajo informando haber logrado sintetizar el isómero *D* de la *bencilpenicilina*. No partieron del ácido peniciloico correspondiente, sino que la síntesis, con pequeño rendimiento, surgió como resultado de la condensación del *clorhidrato de la d-penicilamina* con la *2-benzil, 4-metoximetilen-5 (4)-oxazolona*, a pesar de que esta estructura oxazolónica no es la que posee la penicilina.

En 1948, Sheehan y colaboradores, en el *Massachusetts Institute of Technology*, se embarcaron en un programa cuyo objetivo era desarrollar métodos de síntesis lo suficientemente selectivos para salvar, dicen Sheehan y Logan, «the diabolic concatenations of reactive groupings», y después de nueve años de investigaciones, el día 11 de febrero de 1957, comunicaron (47) haber logrado la *síntesis completa de la sal K de la fenoximetilpenicilina en su forma D*, que era idéntica a la *fenoximetilpenicilina* o *penicilina V* natural que se obtiene por fermentación mediante la estirpe de moho adecuada y empleando como precursor el ácido *fenoxiacético*. También obtuvieron la *forma L*,

pero apenas tenía actividad, y ésta, según los autores, pudiera ser debida a que estuviera contaminada con el *isómero D*.

El trabajo de Sheehan y colaboradores tiene extraordinario interés académico y significa el noble triunfo del entusiasmo, de la voluntad y de la perseverancia del intelecto humano orientadas al descubrimiento de la verdad. Las etapas de esa síntesis son varias y el proceso resulta complicado y costoso. También Sheehan y colaboradores sintetizaron el *ácido 6 Aminopenicilánico*, que es el *núcleo de todas las penicilinas*.

Diversos autores, Hockenhull, Arnstein y colaboradores, Demain, etc., han investigado en estos últimos años sobre el *mecanismo de la biosíntesis de la penicilina* por los mohos que la producen (48).

Arnstein y colaboradores han demostrado de forma inequívoca que la L-cisteína es totalmente incorporada a la molécula de la penicilina, y que también a la L-valina le pasa lo mismo. Es decir, el átomo de N de la ligadura amídica y los átomos de S, C y H de la *estructura β -lactámica* proceden de la L-cisteína, y la porción valínica de la molécula es sintetizada a partir de la L-valina, pero como en la penicilina está su componente valínico con la configuración D, hay que inferir que dispone el moho productor de penicilina de un mecanismo enzimático, aun no descubierto, mediante el cual se pasa de la estructura L a la D. Tampoco se conoce el mecanismo mediante el cual se condensa la cisteína con la valina para dar lugar a la *estructura tiazolidin-betalactámica* y formarse el *ácido 6-amino-penicilánico*, cuya *acilación* en el grupo NH_2 formándose el enlace amídico, $-\text{NH}-\text{CO}-$, se estima que puede ser la etapa final en la *biosíntesis de las diferentes penicilinas*.

Cuando estirpes de *P. chrysogenum* o *P. notatum*, productoras de penicilina, se cultivan en medio sintético producen una mezcla de penicilinas: Δ^2 -*pentenil*, *n-heptil*, *n-butil*, *n-propil penicilinas*, pero cuando se les cultiva en medios a base de C.S.L. producen mayores cantidades de penicilina y con predominio patente de la *bencilpenicilina*, que se interpreta debido a la existencia en el C.S.L. de sustancias del tipo de la *feniletilamina*.

Como la *bencilpenicilina* ofrece ventajas sobre las otras penicilinas desde el punto de vista industrial y clínico, Moyer y Coghill, del N. R. R. L. en Estados Unidos, y casi simultáneamente el Dr. Cook, en Londres, descubrieron que la adición del *ácido fenilacético* a los medios de cultivo a base de C.S.L. incrementaba muchísimo la producción de la *bencilpenicilina*, y hoy es práctica corriente el empleo del *fenil-acético* o del *fenil-acetato potásico* o *sódico* como *precursores*, para orientar, para dirigir la biosíntesis por el moho hacia la *bencilpenicilina*.

Los investigadores de «The Lilly Research Laboratories», Behrens y colaboradores, dieron cuenta en 1948 de haber logrado diferentes tipos de penicilinas por adición al medio de cultivo de *precursores adecuados*, lo cual se designa con el nombre de *biosíntesis dirigida* o *biosíntesis controlada* (49). Así se obtiene en la industria la *penicilina O* o *alilmercaptometil-penicilina* por adición al medio de cultivo del *ácido alilmercaptoacético* y la *penicilina V* o *fenoximetilpenicilina* empleando como precursor, como ya he mencionado, el *ácido fenoxiacético* o el *fenoxietanol*, y recientemente Chain y colaboradores han obtenido la *4-carboxi-n-butil-penicilina* empleando como precursor el *ácido adípico* (50).

Antes de ocuparme de las llamadas *penicilinas semisintéticas*, permítanme ustedes que les dé cuenta de una entrevista para mí inolvidable. Me informa-

ron de que un distinguido bioquímico y Profesor de la Universidad de Tokio había llegado a Madrid y se alojaba en el Hotel Nacional, a dos pasos del Jardín Botánico, donde yo trabajaba. No vacilé y decidí visitar al Profesor Kinichiro Sakaguchi, que ese era su nombre, para ofrecerle mis respetos y ponerme a su disposición si en algo podía yo ayudarle durante su estancia en Madrid, y en la tarde del día 26 de enero de 1952 tuve con él la primera entrevista en su Hotel, que se repitió al día siguiente en mi domicilio donde tuve el honor de brindarle hospitalidad.

No podía yo imaginarme que a los primeros minutos de conocernos estaríamos el Profesor Sakaguchi y yo poniendo fórmulas en un papel sobre una mesita en el *hall* del Hotel Nacional.

La Providencia, que siempre ha estado a mi lado, me deparó el privilegio de conectarme, sin yo saberlo de antemano, con la primera autoridad en Fermentaciones en el Japón y por añadidura interesado como yo lo estaba en todo lo relacionado con la penicilina, y en el transcurso de nuestra primera entrevista el Dr. Sakaguchi me informó que, en colaboración con el Dr. Murao (51), había descubierto un nuevo enzima al cual llamaban *penicilin-amidasa*, que actúa sobre el *enlace amídico* de la *bencil-penicilina* y lo rompe dando origen al *ácido fenil-acético* y a un nuevo aminoácido, al cual llamaban *penicín*, y éste, a pesar de tener intacto el *anillo betalactámico* de la penicilina, estaba *desprovisto prácticamente de actividad antibacteriana* (*).

La *penicilin-amidasa* la obtenían a partir del micelio del *Penicillium chrysogenum* Q 176 y también a partir de la *Takadiastasa* (obtenida del *Aspergillus oryzae*).

También me informó que la *penicilinasa* puede actuar sobre la *penicína* abriendo su *anillo β -lactámico* con formación de un ácido bibásico para el cual habían propuesto el nombre de *penicíc acid*.

Inmediatamente capté la trascendencia del descubrimiento de Sakaguchi y me hice esta reflexión: *Si la penicína que tiene el anillo betalactámico intacto está desprovista prácticamente de actividad antibacteriana, la actividad de la bencilpenicilina y de las demás penicilinas no se debe exclusivamente al anillo betalactámico, sino que exige al mismo tiempo la presencia del encadenamiento amídico, -NH-CO-, ya que al romperse éste por la acción de la penicilin-amidasa se produce la penicína.*

En aquel entonces estaba yo interesado en el *éster dietilamino-etílico* de la *bencil-penicilina* (52) sintetizado por los investigadores daneses Nielsen y Frederiksen a partir de la *bencil-penicilina*, y que el Profesor K. A. Jensen y colaboradores habían demostrado que se acumulaba selectivamente en el tejido pulmonar, y por la circunstancia de haber realizado yo algunos ensayos con dicho éster, en colaboración con el Dr. J. de la Torre y también con el doctor A. Zugaza, se me ocurrió sugerir al Profesor Sakaguchi lo siguiente: *«Sería interesante averiguar si su penicilin-amidasa rompe también a la molécula del éster aietilamino-etílico de la bencil-penicilina por el enlace amídico, en cuyo caso resultaría el éster dietilaminoetílico de la penicína».*

Aquel cambio de impresiones con el Profesor Sakaguchi y el recibir directamente del Maestro el fruto de su gran descubrimiento no se borrará nunca de mi mente, y tanto me impresionó que en el mes de marzo de 1952 preparé un artículo dividido en dos partes y titulado *«Trascendencia terapéutica del*

(*) Recientemente Rolinson y Stevens han estudiado en detalle la actividad antibacteriana del ácido 6-aminopenicilánico (*Proc. of the R. Society, B.*, vol. 154, págs. 509-513, 1961).

éster β -dietil-aminoetilico de la bencilpenicilina y *Trascendencia Científica de la penicilin-amidasa.*» Se iba a publicar en New York, pero tardaron algunos meses en componerlo. Recibí las pruebas de imprenta, y las conservo, pero me pareció que mi entrevista con el Prof. Sakaguchi había perdido actualidad y rogué el Dr. Félix Martí Ibáñez, *Associate Editor of Antibiotics and Chemotherapy*, que no lo publicara. Y fué una verdadera pena que yo tomara esa determinación por cuanto en aquel artículo figuraban las siguientes líneas:

«Los resultados del Prof. Sakaguchi hacen pensar en que puede haber bacterias, mohos y Actinomicetos que deban en parte su resistencia a la penicilina, no solamente porque producen penicilinas, sino también porque pueden disponer de un sistema enzimático del tipo de la penicilin-amidasa.»

* * *

El 5 de marzo de 1953, en un trabajo titulado «*Occurrence of Penicillin-Nucleus in Culture Broths*», comunicó el Dr. Koichi Kato que una estirpe de *Penicillium chrysogenum* —Q 176 pigmentless substrain—, en ausencia de precursor, producía como producto metabólico fisiológico una sustancia desprovista de actividad frente a bacterias sensibles a la penicilina, y que le parecía ser el núcleo de la penicilina y la relacionaba con la penicina de Sakaguchi-Murao. De su muy interesante trabajo (53) reproduzco las siguientes líneas:

«The experimental results described so far have presented a strong evidence for the occurrence of a substance possessing a molecular structure similar to the nuclear part of penicillin proper, being a necessary and sufficient condition for substrate of penicillinase. As soon as phenylacetic acid is added to the medium, this substance is not produced and in place penicillin comes up almost quantitatively. Therefore, it may be called to be the Penicillin -Nucleus.»

* * *

El 26 de noviembre de 1958 los investigadores de *Beecham Research Laboratories, Ltd.*, Dres. Batchelor, Doyle, Nayler y Rolinson, a quienes tuve la oportunidad de visitar el 7 de julio de 1961, comunicaron (54) haber aislado del medio de cultivo sin precursor, metabolizado por el *P. chrysogenum* estirpe W. 51.20, el ácido 6-amino-penicilánico (6 APA) al estado puro, cristalino. Dicho 6 APA, por fenilacetilación *in vitro*, produce la bencilpenicilina.

Lo logrado por los citados investigadores se ha estimado como una gran proeza: Aislaron y dieron realidad al producto que no consiguió aislar Kato. A partir del 6 APA, que es el componente clave, es decir, la sustancia básica de las diferentes penicilinas, se pueden obtener por síntesis infinidad de derivados, o sea, de nuevas penicilinas —las llamadas semisintéticas— cuyas propiedades antibióticas y cuyas particularidades farmacológicas y terapéuticas pueden variar de unas a otras.

Los investigadores de *Beecham Research Laboratories*, a cuyo frente está el Dr. J. Farquharson y que como asesores cooperan el Profesor E. B. Chain y el Dr. A. H. Cook, han abierto con su descubrimiento un campo de investigación potencialmente fecundo. Pero ya no hay necesidad de aislar el 6 APA a partir de los medios de cultivo, aunque los rendimientos logrados por los de Beecham son bastante buenos, puesto que es mucho más fácil obtener esa sustancia, el 6 APA, que viene a ser la penicina de Sakaguchi (55), a partir de la bencilpenicilina, que es barata, desdoblándola en fenil-acético y 6 APA mediante la penicilin-amidasa, enzima que se ha descubierto lo producen muchas bacterias, tales como *Escherichia*, *Bordetella*, *Nocardia*, etc. (56), y muy es-

pecialmente *Escherichia coli*, *Alcaligenes faecalis* y *Streptomyces lavandulae* (57 y 58).

Rolinson y colaboradores han dado cuenta (57) de que hay dos tipos de actividad *penicilin-amidásica*, es decir, que en muchos *actinomicetos* y *hongos filamentosos* existe una *penicilin-amidasa* que hidroliza fácilmente a la *penicilina K*, a la *dihidro-penicilina F* y a la *penicilina V*, y lentamente a la *penicilina G* o *bencilpenicilina*, y, en cambio, la *penicilin-amidasa* de ciertas *bacterias*, tales como *Escherichia* y *Alcaligenes*, hidroliza mucho más rápidamente a la *bencilpenicilina* que a la *fenoximetil-penicilina*. También son muy interesantes las observaciones de Rolinson y colaboradores (57) y de Kaufmann y colaboradores (59), de que la *penicilin-amidasa* tiene acción reversible, es decir, que puede catalizar la síntesis de la *bencilpenicilina* a partir del 6 APA y del ácido *fenil-acético*, aunque las condiciones de pH varían según se trate de catalizar el proceso hidrolítico o inversamente el sintético.

Es decir, que la *penicilin-amidasa* descubierta por Sakaguchi y Murao ha pasado en estos últimos años a un primer plano en investigaciones no solamente de tipo académico, sino también de tipo industrial.

Se han obtenido ya en los *Laboratorios Beecham* centenares de *penicilinas semisintéticas*, y me consta que eso mismo está ocurriendo en los laboratorios de otras firmas farmacéuticas de Inglaterra, Estados Unidos, Alemania y Japón.

Los orgánicos tienen grandes recursos para incorporar al 6 APA por el grupo NH_2 diferentes cadenas laterales muchísimo más variadas que las que puedan introducir los mohos productores de penicilina en las condiciones de fermentación, ya que los mohos solamente son capaces de utilizar muy limitado número de precursores para sus síntesis bioquímicas.

Entre las penicilinas semisintéticas obtenidas hasta ahora en *Beecham Research Laboratories* mencionaré las que destacan por su interés terapéutico: la *α -fenoxi-etil-penicilina*, de espectro antibacteriano similar al de la *α -fenoximetil-penicilina* y también ácido-resistente como ésta, pero se absorbe mejor; la *2-6 dimetoxi-fenil-penicilina*, de gran interés por su resistencia a la *penicilinasas de los estafilococos* y eficaz para el tratamiento de procesos estafilocócicos resistentes a los tipos corrientes de penicilina, pero como no es ácido-estable no puede administrarse por vía oral; la *α -amino-bencil penicilina*, de espectro amplio y con actividad frente a *Haemophilus*, *Proteus* y *Salmonella*, pero no es resistente a la penicilinasas; y la *5-metil-3-fenil-4-isoxazolil-penicilina*, que reúne las características de ácido resistencia y estabilidad frente a la penicilinasas (60, 61, 62 y 63).

Nos hallamos en un momento de gran fiebre de investigación alrededor de las grandes posibilidades en este campo de la síntesis orgánica que ha despertado enorme interés por las penicilinas, y si fué extraordinario el despliegue de investigación para dilucidar la estructura de la penicilina durante los años 1941 al 1944, no será menos extraordinaria la labor que les está reservada a los químicos especializados en la síntesis orgánica para acoplar en el grupo NH_2 del 6 APA y por *enlace amídico* las distintas e innumerables cadenas laterales posibles y obtener así millares y millares de cuerpos nuevos, el estudio de cuyas propiedades químicas, físicas y fisico-químicas, antimicrobianas y farmacológicas ocupará durante muchos años la atención de analistas y físico-químicos, de bacteriólogos y farmacólogos.

Este campo de investigación es de gran porvenir por la posibilidad de hallar entre esas miles de nuevas *penicilinas semisintéticas* alguna que tenga un

espectro antimicrobiano excepcional, que, aunque pueda resultar limitado, puede ser muy diferente del espectro clásico de la penicilina, e incluso cabe esperar que se descubra alguna *penicilina semisintética* con propiedades *anti-tuberculosas*, o *antifúngicas*, o *anti-Virus*...

No quiero terminar esta parte de mi discurso sin evocar un pensamiento del investigador del St. Mary's Hospital, el cual con su genial descubrimiento sentó los cimientos de este grandioso edificio científico construído alrededor de la penicilina y en cuya edificación han colaborado centenares de investigadores.

El pensamiento lo transcribo del discurso «*Nobel Lecture on Penicillin*», que pronunció Fleming en Estocolmo el día 11 de diciembre de 1945 y como apreciarán ustedes también ha sido profético :

«*And we are not at the end of the penicillin story. Perhaps we are only just at the begining. We are in a chemical age and penicillin may be changed by the chemists so that all its disadvantages may be removed and a newer and better derivative may be produced.*»

SINFONIA ANTIBIOTICA

«Les édifices chimiques qui savent construire d'humbles cellules, comprennent, non seulement les opérations les plus savantes de nos laboratoires, mais beaucoup d'autres plus difficiles encore que nous ne saurions imiter.»

GUSTAVE LE BON

Los extraordinarios resultados terapéuticos logrados con la penicilina movilizaron la investigación para la búsqueda de nuevos antibióticos en escala realmente gigantesca y catalizaron la serie de descubrimientos en cadena que nos han conducido a esa *maravillosa* y *grandiosa sinfonía* que significa la incorporación al arsenal terapéutico de los nuevos medicamentos del grupo de los antibióticos.

En este campo de la investigación debe destacarse en primer plano al Profesor Selman A. Waksman, primera autoridad mundial en microbiología del suelo y antibióticos, que estudió las relaciones entre los microbios que viven asociados tanto en cultivos mixtos artificiales como en las poblaciones naturales complejas y analizó sus antagonismos tres años antes de la aparición del primer trabajo de Florey y colaboradores, ya que en 1937 publicó un trabajo en colaboración con Foster y otro en colaboración con Hutchings sobre los antagonismos microbianos (64). Al interpretar Waksman el resultado de sus investigaciones, iba concibiendo la idea de que de aquellos microorganismos del suelo que participan en la destrucción de la materia orgánica y que se antagonizan unos a otros en el suelo y en las placas de cultivo, se podría sacar algún partido desde el punto de vista de su empleo en la lucha contra los microbios patógenos, muchos de los cuales, entre ellos el bacilo causante de la tuberculosis, no sobreviven mucho tiempo en el suelo.

El descubrimiento por Dubos en 1939 de la *gramicidina* y de la *tirocidina*, producidas por un bacilo aerobio esporulado del suelo, el *B. brevis* (36), sirvió de estímulo y de acicate al Profesor Waksman para proseguir sus investigaciones sobre antagonismos, y el 23 de abril de 1940 dió cuenta a la Academia de Ciencias de Washington (65) del aislamiento de un *antibiótico cristalizado*, el primero obtenido a partir de *Actinomycetos*, grupo de bacterias en cuyo estudio estaba él especializado y del cual en los años subsiguientes tantos antibióticos iban a ser obtenidos por él y sus colaboradores, y por otros grupos de investigadores en diferentes partes del mundo.

El antibiótico obtenido por Waksman y Woodruff, la *actinomicina*, era producido por el *Actinomyces* (= *Streptomyces*) *antibioticus* (66), estaba dotado de gran actividad antibacteriana, pero era muy tóxico (67).

La palabra antibiótico, en su acepción actual, fué propuesta por Waksman en 1941 (*) y empleada por él y sus colaboradores en 1942, y por su interés transcribo la definición (68) del citado investigador :

«An antibiotic is a chemical substance, produced by microorganisms, which has the capacity to inhibit the growth and even to destroy bacteria and other microorganisms, in dilute solutions.»

Como también se obtienen de cierto número de animales y de muchas plantas (algas, líquenes, musgos, helechos y fanerógamas) que no son bacterias, ni mohos, sustancias capaces de inhibir el crecimiento de ciertos microbios en disoluciones diluídas, propone Waksman llamar a esas sustancias *antibiotic-like substances*.

Es conveniente recordar que en ese año, 1941, empezó en los Estados Unidos el movimiento de investigación en gran escala relacionado con el desarrollo industrial, estudio de su composición química y aplicaciones clínicas de la penicilina, y ello constituyó otro motivo de estímulo para el Profesor Waksman que intensificó sus investigaciones para explorar las actividades antagonistas y antibióticas de los Actinomycetos, y a partir de ese año los descubrimientos en el Laboratorio del Profesor Waksman, en la *Rutgers University*, se suceden sin interrupción: *micromonosporina*, *clavacina*, *fumigatina*, *chaetomina*, *estreptotricina*, *estreptomycina*, *griseína*, *neomicina*, *estreptocina*, *fradicina*, etc.

No es mi propósito analizar la trascendencia del descubrimiento de la estreptomycina, antibiótico producido por el *Streptomyces griseus*, y activo frente al *Mycobacterium tuberculosis*.

La providencia me deparó la inmensa fortuna de hallarme presente en el domicilio del Profesor Waksman, en New Brunswick, el día 16 de octubre de 1945 pasando una velada (70) en un ambiente musical, en el cual los recuerdos giraron alrededor de los músicos rusos y españoles: *Glinka*, *Borodin*, *Moussorgsky*, *Rimsky Korsakow*, *Albéniz*, *Granados* y *Falla*. Al escribir estas líneas no puedo por menos de evocar a *Chopin*, *Mozart*, *von Weber*, *Bellini*, *Paganini*, *Juan Crisóstomo Arriaga*, *Usandizaga* y tantos otros genios musicales víctimas de la *peste blanca*. Precisamente durante esa velada, a las 9,30 de la noche, habló el Profesor Waksman por la radio al mundo, por primera vez, acerca del descubrimiento de la *estreptomycina*, el antibiótico que tanto iba a significar en la lucha contra la tuberculosis, y las primeras palabras que pronunció el Maestro, con toda modestia y sinceridad, fueron las que siguen :

«The discovery or isolation of streptomycin following that of several other antibiotics was not the result of the efforts of any one scientific worker. It came out of years of arduous effort by several investigators in our laboratory.»

Las investigaciones que demostraron la eficacia antituberculosa de la estreptomycina fueron realizadas en la *Clínica Mayo* por los Dres. *Hinshaw* y *Feldman*, quienes también fueron los que realizaron los primeros tratamientos de enfermos tuberculosos con dicho antibiótico.

Con la experiencia adquirida en la fabricación de la penicilina no resultó

(*) En 1951 el Prof. P. Mascherpa dió (69) la siguiente definición de antibiótico :

«Antibiotici sono sostanze prodotte spontaneamente da organismi viventi (oppure ottenute per sintesi, ma con struttura analoga a quella dei prodotti naturali) aventi azione antibatterica selettiva con meccanismo anti-biometabolico.»

demasiado difícil la obtención de la estreptomina, aunque en su purificación se plantearon problemas específicos como era privarle de la histamina, etc.

Desde el punto de vista químico y en contraposición a la penicilina, que ya hemos visto que es un ácido orgánico, la estreptomina es una base orgánica y su estructura química fué dilucidada en un par de años de investigaciones llevadas a cabo, principalmente, en *The Merck Institute for Therapeutic Research*, en el *Squibb Institute for Medical Research* y en el *Departamento de Bioquímica del Noyes Laboratory of Chemistry* en la *Universidad de Illinois, en Urbana*.

La molécula de la *estreptomina* está integrada por la *estreptidina*, que es una *diguanidina* y que está unida glicosídicamente a un disacárido la *estreptobiosamina* formado por dos monosas: la *estreptosa* y la *N-metilglucosamina*.

La eficacia de la *estreptomina* en el tratamiento de ciertos tipos de tuberculosis y también de otras enfermedades, ya que el espectro antibacteriano de dicho antibiótico es amplio, avivó aún más el interés, que ya era grande, y que había sido despertado de un lado, por los éxitos clínicos obtenidos con la penicilina, y de otro, por las investigaciones de Dubos sobre la *gramicidina* y *tirocidina*, y sucesivamente, a partir de 1945, se han obtenido, especialmente con el concurso de los *Streptomyces*, varios centenares de antibióticos de los cuales se emplean actualmente en terapéutica una treintena, tales como: *cloramfenicol*, *clorotetraciclina*, *oxitetraciclina*, *tetraciclina*, *eritromicina*, *neomicina*, *kanamicina*, *vancomicina*, *nistatina*, *sarcomicina*, *mitomicina*, *actinomicina C* y *paromomicina* entre los antibióticos producidos por *Streptomyces*; *bacitracina*, *polimixina* y *colimicina* entre los producidos por bacterias, y *griseofulvina*, *fumagilina*, *xantocilina* y *variotina* entre los antibióticos producidos por mohos.

* * *

Si bien solamente un corto número de los antibióticos descubiertos hasta el presente forman parte del arsenal terapéutico, todos ellos ofrecen extraordinario interés académico y su estudio químico ha revelado estructuras nuevas, insospechadas.

En el fraccionamiento de algunos antibióticos se han aislado amino-ácidos nuevos, algunos con la configuración D, y en la hidrólisis de otros antibióticos se han obtenido nuevos azúcares, algunos con la configuración L.

Entre las estructuras nuevas, aparte de las de la *penicilina* y *estreptomina* ya mencionadas, señalaré las siguientes:

La *Cefalosporina C*, descubierta por Abraham y Newton (71), tiene de común con la cefalosporina N (que es una penicilina) la cadena lateral derivada del ácido D- α -aminoadípico, pero el núcleo no es el 6 APA, sino el 7-amino-cefalosporánico, un núcleo nuevo en el que el anillo betalactámico está fusionado con una dihidrotiazina.

El *cloramfenicol* tiene de particular un grupo nitrobencénico y un grupo dicloroacetilamínico. Los antibióticos de la familia de las tetraciclinas: *clorotetraciclina*, *oxitetraciclina*, *tetraciclina* y 7-cloro-6-demetil tetraciclina, tienen un núcleo especial llamado tetraciclínico, formado por cuatro anillos.

Los antibióticos del grupo de las *macrólidas*, poseen anillo lactónico grande, formado por varios miembros unidos glucosídicamente a restos de azúcares. Entre ellas están: la *picromicina*, *eritromicina*, *oleandomicina*, *espiramicina* y *carbomicina*.

Los antibióticos *poliénicos*, muchos de los cuales tienen *actividad antifúngica*, poseen cuatro o más enlaces dobles, y entre ellos están: la *nistatina*, *candidina*, *ascosina*, *tetrina*, etc.

Los antibióticos *derivados de la serina*, tales como la *cicloserina* y la *azaserina*.

Entre los *antibióticos glucosídicos* mencionaré la *paromomicina*, formada por glucosa y un disacárido ligado a un derivado del *inositol*. Fué descubierta y desarrollada en los *Laboratorios de Investigaciones de Parke-Davis and Co.*, y es muy interesante porque aparte de su actividad antibacteriana es *activa frente a Entamoeba histolytica*, por lo que se emplea con eficacia en el tratamiento de todas las fases de la *disentería amebiana* producida por *E. histolytica*.

Entre los antibióticos de *núcleo esteroide* están: la *tomatina* y el *ácido fusídico*. La *tomatina* es un *gluco-alcaloide* cuya *aglicona* es un *esteroide básico* unido a un resto de tetrasacárido formado por dos moléculas de glucosa, una de galactosa y otra xilosa. Se extrae de las hojas y tallos de la tomatara, y aparte de su *actividad antifúngica* (72) es *reactivo de precipitación del colesterol* y más selectivo y específico que la *digitonina*.

El *ácido fusídico* ha sido dado a conocer en marzo del presente año por los investigadores Godtfredsen y colaboradores, de los *Laboratorios Leo de Copenhague*. Se trata de un ácido de naturaleza esteroide obtenido a partir de los líquidos de fermentación de determinada estirpe de *Fusidium coccineum*. Su sal sódica es muy soluble en el agua y es muy activa frente a los estafilococos resistentes a otros antibióticos. Es eficaz por vía oral y sus aplicaciones clínicas están en estudio (73).

Los *antibióticos polipeptídicos*, tales como: la *tirocidina*, *gramicidina*, las *bacitracinas* y *polimixinas*. En algunos de estos polipéptidos la *cadena peptídica es cíclica*.

Interés especial ofrecen los *antibióticos cromopeptídicos* constituidos por un núcleo cromóforo «*fenosazona*» unido a dos cadenas peptídicas cortas. Son las *actinomicinas*, las cuales difieren entre sí por la estructura de sus cadenas peptídicas.

La *actinomicina C*, obtenida en 1946 por el Dr. H. Brockmann, fué estudiada por el Dr. Chr. Hackmann, el cual observó su *efecto citostático* en animales con tumores malignos, especialmente sobre el sistema linfático, y esto abrió el camino a su empleo por el Prof. Dr. G. Schulte en casos de *enfermedad de Hodgkin* y con éxito en algunos de ellos. El Profesor Dr. Hans Brockmann, autoridad mundial en la química de las actinomicinas, opina que hay esperanzas de poder obtener por transformaciones químicas derivados de las actinomicinas de mayor actividad y de menor toxicidad (74).

* * *

Aspecto importante, aun no bien conocido, aunque se ha progresado en estos últimos años, es el *posible mecanismo de acción de los antibióticos*.

Hay que consignar que las investigaciones en este campo han obligado a estudiar detenidamente la *composición química de la pared celular de las bacterias*, y consecuencia de ello ha sido el descubrimiento de nuevas sustancias, como el *ácido murámico* y el *ácido diaminopimélico*.

El citoplasma de la célula bacteriana está limitado por una envoltura fina lipoproteica que actúa de *barrera osmótica*, regulando el intercambio entre el medio exterior y el interior. Dicha *membrana citoplásmica* es frágil y se

halla protegida por una estructura rígida, la *pared celular*, a la cual deben su forma las células bacterianas.

En 1949, Park y Johnson descubrieron que en las células de *Staphylococcus aureus* inhibidas por la penicilina se acumulaba determinado *uridin-nucleótido* que Park lo identificó en 1952 con el «*uridin-5'-pyrophosphate muramic acid peptide*». En 1957, Park y Strominger (75) señalaron la existencia de una relación íntima entre el *nucleótido de Park* y el *mucopolisacárido* de la pared celular, y opinaron que la *penicilina actuaría sobre las células bacterianas sensibles interfiriendo con la síntesis de nucleótidos y con su encadenamiento para formar los mucopéptidos de la pared celular*, y como las células sobre las que actúa la penicilina deben hallarse en fase de proliferación, *al faltarles material para la pared celular, falta la rigidez y la membrana citoplásmica se rompe y el material citoplásmico sale y es ya vulnerable*.

La *toxicidad selectiva de la penicilina* se debe a que interfiere con la secuencia metabólica relacionada con la biosíntesis de la pared celular bacteriana, estructura de la que no hay parecido en las células de nuestro organismo.

Salton, en su libro *Microbial Cell Walls* (1960), en relación con este particular, dice así:

«... it is perhaps fortunate for mankind that nature saw fit to encase bacteria in a wall containing amino-sugar and amino-acid structures, not normally encountered in higher organisms, for this undoubtedly accounted for the great selective toxicity of the antibiotic penicillin and probably some of the subsequent antibacterial agents.»

La *Bacitracina A* y la *cicloserina* actúan de forma parecida a la de la penicilina, interfiriendo con la síntesis de los componentes de los que depende la rigidez de la pared celular bacteriana.

Hay antibióticos que *actúan directamente sobre la membrana citoplásmica alterando su permeabilidad*. Por ejemplo: la *tirotricina*, la *gramicidina S* y las *polimixinas*.

La *griseofulvina*, cuya acción deformante de las células funginas fué descubierta por Brian y que es eficaz medicamento en ciertas *dermatomycosis*, se cree que quizá *actúe selectivamente sobre las paredes quitinosas de los hongos susceptibles*.

Las *tetraciclinas* se estima que *bloquean a determinados iones metálicos*—de Fe, Cu, Zn, Mn, Co, oligoelementos que tan necesarios son para determinadas reacciones enzimáticas—, ya que forman con ellos ligaduras de quelación, o sea, *quelatos* (76).

La acción de otros antibióticos se interpreta por *interferencia con la síntesis de las proteínas o de los ácidos nucleínicos*, procesos que, como es sabido, están en íntima relación.

El *cloramfenicol* ha sido el primer antibiótico con el cual, a determinada concentración, se consiguió interferir con la síntesis total de las proteínas sin interferir con la síntesis del ácido ribonucleico.

Según el Profesor Dr. E. F. Gale, el *cloramfenicol* evita la transferencia de residuos amino-acílicos del ácido ribonucleico soluble al ácido ribonucleico de las ribosomas, y como consecuencia cesa la síntesis de las proteínas (77).

En cuanto a los *antibióticos antitumorales*, la *mitomicina* parece ser que *interfiere con la síntesis del ácido ribonucleico destruyendo a los genes* bajo cuyo control son sintetizadas las variadas clases de ácidos ribonucleicos celulares. En cambio, la *actinomicina D* dejaría intacto el material genético, puesto que la duplicación del desoxiribonucleico no es abolida, pero sí suprime

selectivamente, irreversiblemente, la biosíntesis del ribonucleico en cultivos de células de mamíferos.

Reich y colaboradores, que han estudiado (78) los efectos de la *actinomicina D*, dicen así:

«*Actinomycin thus appears to block the expression of genetic potentialities by interfering with that portion of RNA synthesis which is dependent on or governed by cellular or viral DNA.*»

Lo más notable es que *las investigaciones para dilucidar el mecanismo de acción de los antibióticos, están contribuyendo a dilucidar un problema tan fundamental en la biología cual es el mecanismo de la síntesis de las proteínas.*

* * *

Otro problema que preocupa a los especialistas es: *¿Cuál puede ser la significación de los antibióticos en la naturaleza? ¿Les servirán para algo los antibióticos a los microbios que los producen?*

La mayoría de los antibióticos se obtienen con el concurso de *bacterias, actinomicetos o mohos aislados del suelo*, pero operando en cultivo puro, en condiciones determinadas de pH, aireación y temperatura, y en medios nutritivos muy especiales, por ejemplo, a base de CSL, lactosa y sales en el caso de los mohos productores de penicilina.

En las condiciones naturales los suelos, aunque alberguen micelio de mohos productores de penicilina, contendrán muy poca o ninguna penicilina, aun en el caso de que las condiciones nutritivas del medio fueran adecuadas, porque la penicilina sería inactivada inmediatamente de ser producida por las innumerables bacterias, actinomicetos y mohos que hay en el suelo capaces de producir *penicilinas* o *penicilin-amidasas* o ambas enzimas a la vez.

Desde luego hay otros antibióticos que son más estables que la penicilina, como son la *gliotoxina*, el *cloramfenicol* y la misma *estreptomycina*, pero los *Streptomyces* productores de este último antibiótico exigen medios nutritivos ricos en proteínas y que se opere en cultivo puro, y en las condiciones naturales de los suelos no parece que se producirá estreptomycina porque de ordinario no reúne las condiciones nutritivas necesarias, y aunque se produjera algo de estreptomycina sería fijada por adsorción sobre la arcilla.

Cabe admitir que en determinados *rincones*, o *nichos*, ricos en materiales orgánicos a base de fragmentos de hojas, tallos, semillas, frutos, etc., se puedan producir pequeñas cantidades de algunos antibióticos. Así, Brian y colaboradores han demostrado (79) que en manzanas averiadas por el *Penicillium expansum* se produce *patulina* (= clavacina) y en tomates estropeados por *Alternaria solani* se produce *ácido alternárico*, sustancias ambas que allí donde se formen ejercerán indudable *influencia antibiótica local*, por lo que el Dr. Brian opina (80) que *algunos antibióticos se producen en condiciones naturales y que ejercen efecto ecológico en varios tipos de antagonismos microbianos.*

El Profesor Waksman opina que la capacidad de algunos microbios para producir antibióticos es un *fenómeno puramente fortuito y que no está relacionado con ningún mecanismo esencial para su nutrición y crecimiento* (81) y que la habilidad para producir antibióticos debe ser considerada como una de esas propiedades biológicamente en potencia que el investigador descubre y de las cuales saca provecho por adecuada selección de estirpes, empleo de medios nutritivos adecuados y condiciones ambientales convenientes para ob-

tener un producto que puede utilizarlo en provecho suyo, en su propia lucha por la existencia (82).

Lefèvre y colaboradores han demostrado que en algunos estanques de agua dulce, en condiciones naturales, ciertas algas (por ejemplo, *Spirogyra*) producen sustancias antibióticas que en determinadas circunstancias impiden el desarrollo en ese estanque de otras especies de algas (83).

Hace un par de años el biólogo norteamericano Dr. J. Mc Neill Sieburth, en misión en la región antártica, observó que el tubo digestivo de ciertos pingüinos (*Pigoscélidos*) estaba desprovisto de bacterias; entonces tuvo la idea de estudiar su régimen alimenticio y observó que el contenido de su estómago estaba constituido a base del crustáceo *Euphasia superba* y de un alga mucilaginoso del género *Phaeocystis*, de la cual se alimenta ese *Eufásido*. Pues bien, a partir de esa alga obtuvo una sustancia muy sencilla desde el punto de vista químico, ya que se trata del *ácido acrílico* (84), el cual está dotado de actividad frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas, y estima Sieburth que *ese ácido acrílico puede ser el factor de la antibiosis gastro-intestinal* de esos pingüinos y, posiblemente, de otros animales polares.

Sirvan los trabajos que he seleccionado para destacar el interés grande que tiene el tratar de penetrar en las implicaciones ecológicas que pueden derivarse de la producción de antibióticos en condiciones naturales, y hasta cabe pensar en que en alguna circunstancia especial natural, determinado antibiótico haya podido ser origen de mutaciones dentro del mundo microbiano.

* * *

El hecho de que Fleming prestara atención a una *contaminación providencial* y analizara a fondo el fenómeno de su placa y lo interpretara correctamente, nos ha conducido, a través de la serie de etapas que sucintamente he analizado, a la *era de los antibióticos* en que nos hallamos actualmente, joven aun, pero que tiene en su haber, no solamente la revolución producida en la terapéutica de las enfermedades infecciosas con los millones de vidas salvadas y con la esperanza de que se podrán descubrir antibióticos que puedan ser empleados en la lucha contra microbios y virus frente a los cuales aun no disponemos de recursos terapéuticos eficaces para ayudar a nuestro organismo en sus mecanismos defensivos, sino por el *impresionante impacto* que las investigaciones en el campo de los antibióticos ha producido en diferentes ramas del saber. *Nueva savia* ha sido inculada a la *Bacteriología*, *Micología* y *Genética* orientadas actualmente dentro del campo de la *Bioquímica*, la cual ha entrado en su *«etapa de oro»*.

Se ha proporcionado un *estímulo enorme* a la *química orgánica* que tantas y tantas estructuras nuevas e interesantes ha descubierto entre los centenares de antibióticos obtenidos al estado puro.

La *tecnología de las fermentaciones* ha experimentado grandes perfeccionamientos y ha alcanzado un desarrollo extraordinario. Hoy se obtienen industrialmente los antibióticos por centenares de toneladas y por valor de centenares de millones de dólares.

Ha surgido un nuevo campo de la Ingeniería: la *Ingeniería Bioquímica*, cuya finalidad es obtener económicamente productos valiosos por procesos biológicos controlados, y aparte de la variada gama de antibióticos citaré la obtención de la *vitamina anti-anemia perniciosa* o *vitamina B₁₂*, y la obtención *semisintética*, con el concurso de ciertos mohos, de la *cortisona* a partir de esteroides vegetales.

Las investigaciones relacionadas con el descubrimiento de nuevos antibióticos, aislamiento al estado puro, estudio de su estructura química y de sus propiedades farmacológicas y desarrollo industrial del mismo, son muy laboriosas y exigen el esfuerzo cooperativo de diferentes especialistas: bacteriólogos, micólogos, genetistas, orgánico-químicos, analistas, bioquímicos, farmacólogos e ingenieros, y muchas veces ha costado varios millones de dólares la realización de un solo medicamento antibiótico.

En el campo de la Medicina el impacto producido por los antibióticos ha sido altamente beneficioso. No cabe duda de que la *penicilina*, la *estreptomina* y los demás medicamentos antibióticos son una bendición del Cielo que la hemos recibido a través de investigadores excepcionales, escogidos por la Providencia para hacer el bien y para ahorrar lágrimas y sufrimientos a la Humanidad.

¡Cuántos miles y miles de soldados y civiles se beneficiaron durante la última guerra mundial con los efectos terapéuticos de la penicilina, salvándose no solamente sus vidas, sino evitando que sus miembros fuesen amputados! ¡Y qué bien lo expresó el inolvidable don Gregorio Marañón en el prólogo que puso en 1945 a mi libro sobre la penicilina:

«... *este nuevo medicamento* —se refería a la penicilina— *que en nuestras horas luctuosas redime al hombre del pecado de su crueldad; porque entre los cañones y los lanzallamas se insinúa, como un milagro de misericordia, su benéfica, callada y salvadora acción.*»

Recordemos que con el *empleo adecuado, racional y con responsabilidad*, de los medicamentos antibióticos, las infecciones producidas por el *neumococo*, *estreptococo*, *estafilococo*, *bacilo tífico*, etc., pueden ser dominadas, y que las enfermedades producidas por el *gonococo* y el *Treponema pallidum* ya no constituyen plaga social, y que la *endocarditis bacteriana subaguda* ya no es enfermedad sin esperanza, y que el pronóstico de la *tuberculosis* ha cambiado por completo.

Se ha reducido la duración de las enfermedades infecciosas, se evitan las complicaciones y se han reducido las cifras de mortalidad en muchas enfermedades, y *nuestra vida media probable se ha prolongado*, entre otros factores, porque disponemos de antibióticos. Claro está que esto también ocasiona problemas sociales, porque al aumentar el número de individuos por encima de los 65-70 años se produce el consiguiente aumento de la duración del tiempo del pago de retiro a los jubilados, y las familias tienen miembros más ancianos que se resisten a estar inactivos, que quieren trabajar, y, naturalmente, tienen derecho a hacerlo en alguna actividad adecuada a su condición física, y también se aumenta el número de los que consumen alimentos, pero no lo recibamos como un mal porque, ¿qué mayor dicha puede proporcionar a los jóvenes que el poder disfrutar de la compañía y de los consejos y de la protección de los mayores durante el mayor tiempo posible? No dudo que la Ciencia que nos ha traído a las sulfonamidas y luego a los antibióticos hallará también la solución para estos problemas que han surgido como consecuencia de los efectos beneficiosos de dichos medicamentos.

Algunos antibióticos también se emplean en *Medicina Veterinaria*, por ejemplo, para el tratamiento de las *mastitis*; otros se incorporan a la ración alimenticia de cerdos, pollitos, etc., como *factores de precocidad*, y otros se emplean en la *conservación de ciertos alimentos*: carnes de pescado y de aves, preparados lácteos, conservas de frutas, etc. Entre los antibióticos empleados

en la conservación de alimentos figuran: las *tetraciclinas* y la *nisina*, polipéptido que se obtiene con el concurso de determinada estirpe de *Streptococcus lactis* (Hawley —85—).

Hay antibióticos que se emplean, aunque en pequeña escala por el momento, como tratamiento preventivo o curativo de determinadas infecciones bacterianas o fúngicas en plantas, tales como: el manzano, guisante, tabaquera, tomatera, etc. Entre los antibióticos empleados en Patología Vegetal mencionaré: la *estreptomicina*, *cicloheximida*, *griseofulvina*, *antimicina*, etc.

Y finalmente, señalaré que el empleo de ciertos antibióticos para mantener los cultivos de tejidos libres de contaminación bacteriana y fúngica, *ha hecho posible el aislamiento de nuevos virus relacionados con la etiología de ciertas enfermedades respiratorias.*

¡Qué consecuencias *a priori* insospechadas pueden surgir de un descubrimiento científico! ¡Qué satisfacción más inmensa tiene que proporcionar a los que durante su vida han podido apreciar que han servido de instrumento a la Providencia para hacer el bien a sus semejantes! ¡Qué extraordinario resulta el que de seres tan humildes en la escala biológica, de aquellos seres microscópicos que contempló con asombro por primera vez en el campo de sus lentes Leeuwenhoek, se hayan podido obtener sustancias de tan extraordinario interés científico y terapéutico!

Ya lo dijo San Agustín: «*Deus magnus in magnis, nec parvus in minimis*» o «*Deus magnus in magnis, maximus in minimis*». Dios es grande en las cosas grandes sin ser pequeño en las pequeñas, o Dios grande en lo grande y más grande aun en lo pequeño.

El fenómeno de la *antibiosis* es universal y todos los microbios, en medio adecuado, son capaces de producir algún antibiótico específico frente a determinadas células. Estamos aún en los albores de esta *nueva era de los antibióticos* potencialmente fértil y, como diría Séneca, «*Multum adhuc restat*», y su sentencia sigue aún válida, a pesar del enorme progreso logrado desde los tiempos del filósofo cordobés; pero a los que se dediquen a este campo de la investigación tan apasionante les recordaré la frase de Horacio: «*Nihil sine magno vita labore dedit mortalibus.*»

Se ha dicho, y creo que fué Pasteur el primero que lo dijo, que *la Ciencia no tiene fronteras, no tiene Patria, porque el conocimiento y el saber pertenecen a la Humanidad y constituyen la antorcha que ilumina al Mundo.*

No dudo que en los años venideros se realizarán nuevos descubrimientos y que alguno de ellos nos hará elevarnos otro poco hasta una cima desde donde podremos vislumbrar entre tinieblas nuevos horizontes a los que probablemente nosotros no llegaremos, pero si lo lograrán los que nos sucedan, a quienes tenemos el deber de entregar la antorcha luminosa que representa este esfuerzo cooperativo colosal de investigaciones realizado en estos últimos años alrededor de los antibióticos y con el mandato de que la mantengan siempre ardiendo como una deuda de gratitud que tenemos contraída con la pléyade de investigadores que con su esfuerzo y sacrificio han descubierto nuevos medicamentos para aliviar en su dolor a la Humanidad, meta que debe ser nuestro objetivo, ya que como bien dijo Pasteur: *La vida no merece la pena de ser vivida, sino por el bien que podamos hacer a nuestros semejantes.*

BIBLIOGRAFIA Y NOTAS ADICIONALES

- (1) J. B. REGNAULT: «Observations on Pulmonary Consumption, or an Essay on the Lichen Islandicus, considered both as an Aliment and a Medicine in that Disorder». London, 1802. Puede verse la reproducción fotográfica de la portada de este trabajo en mi estudio «Sobre el Liquen Islándico», publicado en *Medicamenta*, marzo, 1951, págs. 111-112.
- (2) A. STOLL, A. BRACK y J. RENZ: «Die antibakterielle Wirkung der Usninsäure auf Mykobakterien und andere Mikroorganismen». *Experientia*, vol. III/3, págs. 115-116 (1947).
- (3) F. BUSTINZA: «Antibacterial substances from Lichens». *Endeavour*, vol. X, número 38, págs. 95-99 (1951); y «Contribución al estudio de la actividad antibacteriana de *Cetraria islandica* (L.) Ach.». *An. J. Bot.*, de Madrid, tom. X, págs. 143-149 (1951).
- (4) F. BUSTINZA: «Los precursores en la investigación de los antibióticos. Primera nota. Sobre la actividad antibiótica del jugo del bulbo de *Allium cepa* L.». *Anal. del I. Bot. A. J. Cavanilles*, de Madrid, tom. XVII, págs. 3-14 (1959).
- (5) FORDOS: «Recherches sur la matière colorante des suppurations bleues: pyocyanine». *C. A. Ac. Sc.*, tom. 51, págs. 215-217 (1860).
- (6) FORDOS: «Recherches sur les matières colorantes des supurations bleues: pyocyanine et pyoxanthose». *C. R. Ac. Sc.*, tom. 56, págs. 1128-31 (1863).
- (7) Esta referencia la tomo del trabajo de C. GARRÉ: «Ueber Antagonisten unter den Bacterien», publicado en *Correspondenz-Blatt für Schweizer Aerzte*, n.º 13, XVII, Jahrg. (1887), 1 Juli, págs. 385-392, cuya fotocopia poseo gracias a la gentileza del Dr. J. R. Frey, de Basilea.
- (8) MARLENE JANTSCH: «Billroth und das antibiotische Prinzip». *Wien Med. Woch.*, 103, n.º 46, S. 883-884 (1953).
- (9) Fué Ainsworth el primero en nuestros tiempos en llamar la atención sobre este trabajo de W. Roberts. [G. C. AINSWORTH: «First Observation of Antibiotic action». *The Lancet*, 1, pág. 836 (1950).]
- (10) *Philos. Trans. Roy Soc.*, tom. 164, págs. 457-477 (1874).
- (11) *Philos. Trans. Roy Soc.*, tom. 166, págs. 27-74 (1876).
- (12) *C. R. Ac. Sc.*, tom. 85, págs. 101-115 (1877).
- (13) A. CANTANI: «Versuch einer Bakteriotherapie». *Centralb. f. die Medic. Wissensch.*, 18 Juli 1885, n.º 29, págs. 513-515.
- (14) V. BABES: «Concurrence vitale des bactéries. Attenuation de leurs propriétés dans des milieux nutritifs modifiés par d'autres bactéries. Tentatives de thérapeutique bactériologique». *J. des Conn. Medic. Prat. et de Pharmacologie*, págs. 321-323 (1885).
- (15) C. GARRÉ: «Ueber Antagonisten unter den Bacterien». *Correspondenz-Blatt für Schweizer Aerzte*, n.º 13, XVII, Jahrg. 1887, 1 Juli, págs. 385-392.
- (16) M. CHARRIN y L. GUIGNARD: «Action du bacille pyocyanique sur la bactériidie charbonneuse». *C. R. Ac. Sc.*, tom. 108, págs. 764-766 (1889).
- (17) R. EMMERICH y O. LÖW: «Bakteriologische Enzyme als Ursache der erworbenen Immunität und die Heilung von Infektionskrankheiten durch dieselben». *Ztschr. Hyg. Immunität*, 31: 1-65 (1899).
- (18) P. VULLEMIN: «Antibiose et Simbiose». Assoc. Française pour l'Avancement des Sciences, 18è. session, Paris, 1889, 2è. partie, págs. 525-543.
- (19) V. TIBERIO: «Sugli Estratti di Alcune Muffe». *Annali d'Igiene Sperimentale*, páginas 91-103 (1895).

La nota bibliográfica de este trabajo la recibí del Profesor A. Pazzini, de la Universidad de Roma, y el Profesor G. Penso me remitió fotocopia del mismo.

- (20) B. GOSIO: «Ricerche batteriologiche e chimiche Sulle Alterazioni del Mais. Contributo all'etiologia della pellagra». *Rivista d'Igiene e Sanità Pubblica*, 1.º nov. 1896, págs. 825-849, y la continuación en id. id. 16 nov. 1896, págs. 869-888.
Recibí microfilm de este trabajo gracias a la amabilidad del Profesor G. Penso, de Roma.
- (21) A. LODE: «Experimentelle Untersuchungen über Bakterien-antagonismus». *I. Centralbl. f. Bakt.*, I. Abt. Originale. Bd. XXXIII, n.º 3, págs. 196-208 (1903).
- (22) H. W. FLOREY: «Penicillin in Perspective». *Antib. Annual.*, págs. 12-20 (1958-59).
- (23) C. R. Soc. Biol. Séance du 12 avril 1913, tom. LXXIV, pag. 752.
- (24) L. COLEBROOK: «Bacterial antagonism, with particular reference to Meningococcus». *The Lancet*, 2, págs. 1136-1138 (1915).
- (25) R. LIESKE: «Morphologie und Biologie der Strahlenpilze (Actinomyceten)». Leipzig, Verlag von Gebrüder Borntraeger, 1921.
He podido consultar este libro gracias al Instituto de Cultura Alemán en Madrid, que lo trajo expresamente en préstamo desde Alemania.
- (26) A. GRATIA y S. DATH: «Propriétés bactériolytiques de certain moisissures». *C. R. Soc. Biol.*, tom. 91, pag. 1442 (1924).
- (27) A. GRATIA y S. DATH: «Moisissures et Microbes Bactériophages». *C. R. Soc. Biol.*, tom. 92, págs. 461-462 (1925).
- (28) F. BUSTINZA: *Diez años de amistad con Sir Alexander Fleming*. Edit. M. A. S., 1961.
- (29) A. FLEMING: «Some problems in the use of antiseptics». *The British Dental Journal*, V, 52, págs. 105-117 (1931).
- (30) A. FLEMING: «On the specific antibacterial properties of penicillin and potassium tellurite». *The J. of Path. and Bact.*, vol. XXXV, págs. 831-842 (1932).
- (31) A. FLEMING: «Selective Bacteriostasis». *Proc. Second Int. Cong. for Microbiology*. London, págs. 33-34 (1936).
- (32) F. BUSTINZA: «Contribución a la historia de la penicilina». *An. del Inst. Esp. de Edaf., Ecol. y Fisiol. Veg.*, tom. V, vol. I, junio 1946.
- (33) F. BUSTINZA: «Unas líneas sobre los mohos y sobre el ilustre micólogo Dr. Charles Thom, quien visitó Bilbao en abril de 1947». *Rev. Financiera del Banco de Vizcaya*, págs. 367-372 (1901-1951).
- (34) P. W. CLUTTERBUCK, R. LOVELL y H. RAISTRICK: «Studies in the Biochemistry of Micro-organisms. XXVI. The formation from glucose by members of the *Penicillium chrysogenum* series of a pigment, an alkali-soluble protein and Penicillin—the antibacterial substance of Fleming». *The Bioch. Jour.*, vol. XXVI, n.º 6, págs. 1907-1918 (1932).
- (35) ROGER D. REID: «Some properties of a bacterial inhibitory substance produced by a mold». *J. of B.*, vol. 29, pag. 215 (1935).
- (36) Para más detalles, véase en mi libro *De Koch a Waksman. La estreptomycinina y la lucha contra el *Mycobacterium tuberculosis**, Espasa-Calpe, 1948, el capítulo dedicado a las «Investigaciones del Dr. René J. Dubos».
- (37) La actividad antagonista de bacterias esporuladas del suelo había sido observada por diversos investigadores: Duclaux (1898), Nicolle (1907) y otros; y en 1912 Rappin observó que filtrados de cultivos de *B. mesentericus* protegían a cobayos infectados con bacilos tuberculosos.
- (38) H. FLOREY: «Penicillin». Peter le Neve Foster Lecture, 7 June 1944 (*J. of the Roy. Soc. of Arts.*, nov. 10, 1944, págs. 652-658).
- (39) E. B. CHAIN: «The development of Bacterial Chemotherapy». Conferencia desarrollada con motivo del centenario del nacimiento de P. Ehrlich y publicada en *Ant. and Chem.*, 3, 215 (1954).
- (40) La actividad de la penicilina empleada en esta primera experiencia de protección no llegaba a 4 U. por mg.; es decir, que su pureza no llegaba al 0,25 por 100.
- (41) E. CHAIN y colab.: «Penicillin as a Chemotherapeutic Agent». *The Lancet*, August 24, 1940, pag. 226.
- (42) Todos los datos que presento relacionados con el Dr. Charles Thom los he recogido directamente en mis conversaciones sostenidas con él: primero en el N. R. R. L., en Peoria, el 24 de septiembre de 1945; luego durante su estancia en Madrid, abril y mayo de 1947, y finalmente en París, donde nos vimos en julio de 1954, con motivo del Congreso Internacional de Botánica.
- (43) M. P. BACKUS y J. F. STAUFFER: «The production and selection of a family of strains in *P. chrysogenum*». *Mycologia*, vol. XLVII, n.º 4, págs. 429-463 (July-August 1955).

- (44) Debo a la amabilidad de la Biblioteca de la Casa Americana de la Embajada de los Estados Unidos de América en Madrid una fotocopia del resumen de la comunicación del Dr. Dawson y colaboradores publicada en *Proceedings of the Thirty Third Annual Meeting*, American Society for Clinical Investigation, July 1941, pág. 434.
- (45) E. P. ABRAHAM, E. CHAIN, W. BAKER y R. ROBINSON: «Penicillamine a characteristic degradation product of penicillin». *Nature*, vol. 151, pág. 107 (1943).
- (46) E. P. ABRAHAM y E. CHAIN: «An Enzyme from Bacteria able to destroy Penicillin». *Nature*, vol. 146, pág. 837 (1940).
- (47) J. C. SHEEHAN y K. R. H. LOCAN: «The total synthesis of Penicillin V.». *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 79, págs. 1262-1263 (1957); y también en *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 81, páginas 3089-3094 (1959).
- (48) H. R. V. ARNSTEIN y colab.: «The biosynthesis of Penicillin and some other antibiotics». *Ann. Reports of the Chem. Soc. for 1957*, vol. 54, págs. 339-352 (1958).
ARNOLD L. DEMAIN: «The mechanism of Penicillin biosynthesis». *Adv. in Appl. Microbiology*, vol. I, págs. 23-47 (1959).
ARNOLD L. DEMAIN: «Alpha amino adipic acid and the Biosynthesis of the Penicillins». Debo a la gentileza del Dr. Demain un ejemplar mecanografiado de este trabajo, que me lo remitió el 13 de marzo de 1961.
- (49) R. G. JONES: «The Precursor control of Antibiotic biosynthesis». Lilly Research Laboratories. Este trabajo mecanografiado me lo remitió el Dr. R. G. Jones, indicándome que lo presentaba al Symposium sobre «Production of Antibiotics by Microorganisms and Higher Plants», organised by Dr. H. B. Woodruff.
- (50) A. BALLIO, E. CHAIN, etc.: «Incorporation of α - ω -dicarboxylic acids as side-chains into the Penicillin Molecule». *Nature*, vol. 185, págs. 97-99 (1960).
- (51) S. MURAO y K. SAKAGUCHI: «Preliminary report on a new enzyme, Penicillin-amidase». *J. Agr. Chem. Soc. (Japan)*, 23, 411 (1950).
- (52) F. BUSTINZA: «Sobre el éster dietil-amino-etílico de la bencil-penicilina». *Medicamenta*, n.º 55, págs. 3-5 (1952).
- (53) KOICHI KATO: «Occurrence of Penicillin-Nucleus in culture broths». *J. of Antibiotics*, ser. A, July 1953, págs. 130-136.
- (54) F. R. BATCHELOR, F. P. DOYLE, J. H. NAYLER y G. N. ROLINSON: «Synthesis of Penicillin: 6-Aminopenicillanic Acid in Penicillin Fermentations». *Nature*, vol. 183, páginas 257-258 (1959).
- (55) El punto de fusión que dan Sakaguchi y Murao para su *penicin* es muy inferior al que dan Batchelor y colaboradores para el 6-APA, y por lo tanto, siendo este 6-APA puro y cristalino, el punto de fusión de los británicos (208-209° C), es el que tenemos que aceptar para la especie química: *ácido 6-aminopenicilánico*. Hay que pensar que Sakaguchi y Murao no llegaron a aislar en 1950 el 6-APA puro, sino acompañado de otras sustancias, pero esto no disminuye el mérito de su descubrimiento del *enzima que rompe el enlace amídico* de la bencilpenicilina, y en mi opinión no existe la menor duda de que ellos comprendieron bien la naturaleza del proceso químico catalizado por su *penicilin-amidasa*.
- (56) H. T. HUANG y colab.: «Enzymatic Hydrolysis of the Side Chain of Penicillins». *J. of the Am. Chem. Soc.*, 82, 3790 (1960).
- (57) G. N. ROLINSON y colab.: «Formation of 6-Aminopenicillanic Acid from Penicillin by Enzymatic Hydrolysis». *Nature*, vol. 187, págs. 236-237 (1960).
- (58) C. A. CLARIDGE, A. GOUREVITCH y J. LEIN: «Bacterial Penicillin-Amidase». *Nature*, vol. 187, págs. 237-238 (1960).
- (59) W. KAUFMANN, K. BAUER y H. A. OFFE: «Enzymatic cleavage and resynthesis of Penicillins». *Antimicrobial Agents Annual*, 1960, págs. 1-5.
- (60) E. T. KNUDSEN y G. N. ROLINSON: «Absorption and excretion studies of the potassium salt of 6(α -phenoxypropionamido penicillanic acid)». *The Lancet*, December 19, 1959, págs. 1105-1109.
- (61) En el *British Medical Journal* de 3 de septiembre de 1960 se publicaron varios trabajos relacionados con la 2-6-dimetoxi-fenil-penicilina.
- (62) En el *British Medical Journal* del 22 de julio de 1961 se publicaron varios trabajos sobre la α -aminobencilpenicilina.
- (63) F. P. DOYLE y colab.: «New Penicillins Stable towards both Acid and Penicillinase». *Nature*, vol. 192, págs. 1183-1184 (1961).

- (64) Para un estudio más detallado de la obra científica de Waksman véase F. BUSTINZA: «Discurso de presentación del Profesor Selman A. Waksman», en su recepción como Académico de Honor en la Real Ac. de Farmacia el día 22 de abril de 1950, en *Anales de la Real Academia de Farmacia*, junio de 1950.
- (65) S. A. WAKSMAN y H. B. WOODRUFF: «The soil as a source of microorganisms antagonistic to disease-producing bacteria». *J. of Bact.*, vol. 40, págs. 581-600 (1940).
- (66) S. A. WAKSMAN y H. B. WOODRUFF: «Actinomycetes antibioticus, a new soil organism antagonistic to pathogenic and non-pathogenic bacteria». *J. of Bact.*, vol. 42 páginas 231-249 (1941).
- (67) H. J. ROBINSON y SELMAN A. WAKSMAN: «Studies on the toxicity of Actinomycin». *The J. of Pharmacology and Exp. Therapeutics*, vol. 74, n.º 1, Jan. 1942, págs. 25-32.
- (68) S. A. WAKSMAN: «Antibiotics. A new Field of Science of Life-Saving Substances». *Ant. and Chem.*, vol. 1, n.º 1, pág. 1 (April 1951).
- (69) P. MASCHERPA: «Una definizione di antibiotico». *Giornale Italiano di Chemioterapia*, vol. 1, n.º 1, pág. 213 (1954).
- (70) F. BUSTINZA: *De Koch a Waksman. La Estreptomycina y la lucha contra el Mycobacterium tuberculosis*. Espasa-Calpe, S. A., 1948.
- (71) E. P. ABRAHAM y G. G. F. NEWTON: «The Structure of Cephalosporin C». *B. J.*, 79, 377 (1961).
- (72) F. BUSTINZA: «La Tomatina». *Farmacia Nueva*, enero 1947.
- (73) W. O. GODTFREDSSEN, S. JAHNSEN, H. LORCK, K. ROHOLT y L. TYBRING: «Fusidic Acid: A new antibiotic». *Nature*, vol. 193, pág. 987 (1962).
- (74) H. BROCKMANN: «Studies on Actinomycines». Conferencia desarrollada en la sesión científica celebrada con motivo del centenario del nacimiento de P. Ehrlich y de E. von Behring el 16 de marzo de 1954.
- H. BROCKMANN: «Structural differences of the Actinomycines and their derivatives». *Ann. of the N. Y. Ac. of Sc.*, vol. 89, art. 2, págs. 323-335 (1960).
- (75) J. T. PARK y J.-L. STROMINGER: «Mode of Action of Penicillin». *Science*, vol. 125, págs. 99-101 (1957).
- (76) E. D. WEINBERG: «The relationship of Metal-Binding to Antimicrobial Action». *Metal-Binding in Medicine*. J. B. Lippincott Co., 1960, págs. 329-334.
- (77) E. F. GALE: «The Action of Antibiotics». *Research*, vol. 14, págs. 219-223 (1961).
- (78) E. REICH, R. M. FRANKLIN, A. J. SHATKIN y E. L. TATUM: «Effect of Actinomycin D on Cellular Nucleic Acid synthesis and Virus Production». *Science*, vol. 134, páginas 556-557 (1961).
- (79) P. W. BRIAN, G. W. ELSON y D. LOWE: «Production of Patulin in Apple Fruits by *Penicillium expansum*». *Nature*, vol. 178, págs. 263-264 (1956).
- (80) P. W. BRIAN: «The ecological significance of Antibiotic Production». *Symposia of the Soc. for General Microbiology*, n.º VII. *Microbial Ecology*, pág. 168 (1957).
- (81) S. A. WAKSMAN: «The role of Antibiotics in Nature». *Perspectives in Biology and Medicine*, vol. IV, n.º 3, Spring 1961, págs. 271-287.
- (82) S. A. WAKSMAN: «Biological Aspects of Antibiotics». *Frontiers in Medicine*, páginas 99-119. Columbia University Press, 1951.
- (83) M. LEFÉVRE, H. JAKOB y M. NISBET: «Auto et Hétéroantagonisme chez le algues d'eau douce in vitro et dans les collections d'eau naturelles». *Ann. Stat. Centrale d'Hydrob. Appliquée*, tom. IV, págs. 5-198 (1952).
- (84) J. MC NEILL SIEBURTH: «Acrylic Acid, an Antibiotic Principle in Phaeocystis Blooms in Antarctic waters». *Science*, vol. 132, págs. 676-677 (1960).
- (85) H. B. HAWLEY: «Antibiotics in Food». *Laboratory Practice*, vol. 9, sept. 1960, páginas 659-663.

DISCURSO DE CONTESTACION

POR EL ACADEMICO NUMERARIO

EXCMO. SR. D. OBDULIO FERNANDEZ RODRIGUEZ

EXCELENTÍSIMO SEÑOR PRESIDENTE,
EXCELENTÍSIMOS SEÑORES ACADÉMICOS,
SEÑORAS, SEÑORES :

La senectud con sus penalidades tiene satisfacciones incomparables: la facultad de poder girar la visión hacia épocas pretéritas permite distinguir lo agradable de entre tanta nadería acumulada en el transcurso del tiempo, y justamente esa facultad de percibir lo grato entre lo chabacano y lo inútil, trae al espíritu la alegría de ver a los discípulos caminando con paso firme por la senda del progreso y de la vida científica austera. Hoy se renueva en mi espíritu esa alegría al ver en este senado académico al prestigioso maestro don Florencio Bustinza, Catedrático de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Madrid. placer que se exalta al considerar que adquiero la responsabilidad de contestar a su discurso de ingreso en nuestra casa, y que debo exponer su largo historial académico.

El giro de la visión a que aludí alcanza a la época en que Bustinza fué alumno brillante de las Facultades de Ciencias y de Farmacia y cuando siendo todavía discípulo mío, en el Doctorado de Farmacia, ganó por oposición, y en buena lid, en 1926, la Cátedra de Agricultura y Tecnología Industrial del Instituto de Salamanca, y cuatro años después, y también por oposición, la misma Cátedra en el Instituto del Cardenal Cisneros de Madrid, en donde se destaca pronto su amor a la docencia y su entusiasmo por hacer comprender a sus discípulos temas más o menos complicados empleando esquemas y sencillos aparatos accesibles a los que se interesaban por conocer la base de la agricultura y de la tecnología españolas. Quedó demostrada en este período azaroso de la vida española la entrega completa de Bustinza a la enseñanza de una juventud distraída por los acontecimientos políticos, reflejando en todos sus actos el anhelo de la verdad, de desinterés y de amor a una evolución pedagógica que capacitaba a sus alumnos para comprender los difíciles problemas económicos y técnicos que se cernían sobre nuestro país maltrecho y abandonado a las contingencias de los partidos políticos.

Pero un buen día las combinaciones ministeriales de aquel entonces ponen la cartera de Instrucción Pública en manos de un ministro que no considera a la Agricultura y Tecnología Industrial como disciplina necesaria en el Bachillerato y suprime esta asignatura instituída en buena hora con el propósito de que los alumnos conociesen cuál es el substrato en que se fundamenta la vida de la nación, es decir, los fundamentos en que descansa la agronomía, la técnica forestal, la ganadería racional y la técnica industrial moderna y como base para iniciarles en los problemas fundamentales de la economía.

El edificio que levantó Bustinza con tanto esfuerzo no cae sin protesta, la cual consistió en una vibrante defensa que hizo de la Agricultura y de la Tecnología Industrial ante el Consejo Nacional de Cultura y en la *Revista de Institutos*.

Bustinza ha publicado tres libros de carácter pedagógico relacionados con la Agricultura y la Técnica Industrial, titulados *Elementos de Técnica Industrial*, en 1931; *Agricultura e Industrias Agrícolas*, en 1933, y *Elementos de Agricultura, Técnica Industrial y Economía*, en 1935, los cuales fueron informados favorablemente por esta Academia, sirviendo por lo tanto como mérito en la carrera de su autor. Ellos acreditan al Profesor Bustinza como escritor fácil y brillante, como pedagogo de excepcionales cualidades, puestas de relieve en sus largos años de convivencia con la juventud escolar; mas su labor pedagógica y literaria se acrece con otros libros más recientes, desinteresadamente escritos, entre los que debo destacar: *De Pasteur a Fleming: La penicilina y los antibióticos antimicrobianos*, y *De Koch a Waksman: La estreptomicina y la lucha contra el «Mycobacterium tuberculosis»*, ambos prologados por nuestro compañero el Dr. D. Gregorio Marañón. Del prólogo que puso el ilustre endocrinólogo al libro de la estreptomicina son las siguientes líneas:

«Bustinza ha vivido, uno a uno, cada cual de los capítulos de esta historia maravillosa que se lee con apasionado interés, no sólo por la magnitud del argumento, sino por el arte con que lo desarrolla el autor. Muy pocos entre los biólogos actuales serían capaces de realizar esta síntesis, tan clara y tan copiosa en datos. Porque es, ciertamente, difícil reunir los valores que se dan en nuestro autor; la completa información bibliográfica, el conocimiento vivo de los aspectos íntimos del problema recogidos y comentados de boca de sus propios autores; y, en fin, la personal experiencia del escritor, que ha aportado ya contribuciones importantísimas a la materia.»

La obra de Bustinza sobre la penicilina fué traducida al francés y publicada en Neuchâtel (Suiza). Su extenso trabajo *Contribución a la historia de la penicilina*, publicado en 1946, fué encomiásticamente elogiado en el extranjero, y de él se ha escrito que se trata de «una pieza fascinadora de documentación científica de único y permanente valor histórico.» Estas publicaciones y sus valiosos trabajos de investigación en el campo de los antibióticos explican el merecido prestigio de que goza Bustinza en el ambiente internacional: Fué elegido y actuó como vicepresidente en la sección de *Growth Inhibitors* en el Congreso Internacional de Microbiología celebrado en Roma en septiembre de 1953; fué ponente sobre *Antibiotics from Lichens* en el Congreso Internacional de Botánica celebrado en París en julio de 1954. Por eso el libro *The Antibiotic Saga*, de los Dres. H. Welch y F. Martí-Ibáñez, escrito en inglés y publicado en 1960 en los Estados Unidos, está dedicado a Bustinza con estas palabras:

«Al Dr. Florencio Bustinza, de Madrid, científico, educador y hombre de buena voluntad, en la línea de la gran tradición humanística española, que tanto y tan bueno ha hecho en la investigación antibiótica y en crear una cooperación internacional entre los científicos investigadores en este campo.»

De intento he dejado aparte un libro muy bello de Bustinza titulado *Diez años de amistad con Sir Alexander Fleming*, en el que el autor rinde culto fervoroso a la amistad con el sabio descubridor de la penicilina; no pretendo derivar nada de su lectura, porque el prologuista, Profesor Laín Entralgo, dice lo bastante: «*La amistad requiere darse al amigo, regalarle un fragmento de nuestra vida y de nuestro ser*»; por cumplir esa condición califica justamente a Bustinza de *vir bonus physiologizandi peritus*. Mas no sólo acredita el libro de «vir bonus» a su autor; lo acredita también de patriota, porque Bustinza llevó el peso de la organización de los actos culturales en ho-

menaje a Fleming en Madrid cuando el insigne bacteriólogo vino para recibir la investidura de Doctor *honoris causa* en Ciencias Naturales por nuestra Universidad en aquella ceremonia inolvidable que tuvo lugar el 12 de junio de 1948 y en la cual pronunció Bustinza un emocionante discurso de presentación.

Al relatar su estado de ánimo al despedirse de Fleming cuando éste se marchó de Madrid, se expresa así:

«Como español siento gran satisfacción al haberle oído decir que se marcha encantado de haber venido a nuestra Patria. Aquí experimentó por primera vez la emoción del homenaje de gratitud sincero y espontáneo de todos los españoles. Allí por donde pasó dejó una estela de bondad, de sencillez y de simpatía, y en todas partes pulsó el entusiasmo, la vibración y el clamor popular. Al realizar este homenaje justo, el pueblo español, tan sensible siempre y tan hidalgo y generoso, ha contribuido al prestigio de nuestra Patria.»

Pero además Bustinza ha acogido con frecuencia en su hogar a científicos extranjeros: Thom, Raistrick, Waksman, Florey, Chain, Lehmann, Skottsberg, Sakaguchi, Sumiki y tantos otros, acompañando incluso a algunos por nuestra Patria, mostrándoles sus bellezas naturales y arquitectónicas y las particularidades del pueblo español, contribuyendo así a que se llevaran de España un concepto más amplio de nuestro pueblo, tan amante de la verdad, del orden y de la paz.

Su libro *Diez años de amistad con Sir Alexander Fleming* es la revelación del carácter tenaz de Bustinza: no le duelen molestias ni dificultades; por eso un día se oye decir que está en Londres o en Peoria (EE. UU.), y a las pocas semanas o meses presenta una comunicación científica o desarrolla una conferencia en Copenhague, en Lisboa, en Rema, en París o en New York; pero el mejor ejemplo de su tenacidad investigadora es el del hallazgo de *Cyclotellas* en un esputo. Encontrar ejemplares de *Cyclotella* en el esputo de un presunto tuberculoso era evento imprevisto, pues se trata de un género de diatomeas que comprende especies actuales vivientes en aguas dulces y saladas y otras fósiles, a cuya presencia, por inusitada, había que buscarle explicación en relación a la posible existencia de una silicosis.

La escrupulosidad ejemplar de Bustinza como analista clínico le obligó a esclarecer el origen de dichas diatomeas. Una conversación con el interesado demostró que éste no había tenido contacto con atmósferas que pudieran contener partículas silíceas. Nuevos análisis efectuados con muestras cuidadosamente recogidas revelaron la ausencia de *Cyclotellas*; entonces fué cuando Bustinza pensó que pudiera tratarse de una contaminación procedente del jabón empleado para la limpieza del recipiente donde se recogió el esputo para el primer análisis, y su curiosidad científica no le permitió descanso hasta dilucidar su sospecha. Logró averiguar que en Madrid alguien utilizaba tierra de diatomeas para fabricar ciertos jabones, y después de una labor ardua logró dar con el fabricante, quien le facilitó una muestra de tierra de diatomeas llamada *fósil de caracolillo*, cuyo examen microscópico reveló la presencia de *Cyclotellas*. Bustinza consultó la colección de preparaciones de diatomeas del ilustre especialista D. Florentino Azpeitia, que perteneció a esta Corporación, observando que la preparación correspondiente a *Cyclotella seipunctata* coincidía con algunas de las *Cyclotellas* de los esputos. El reverendo P. Luis María de Unamuno y D. Primitivo Hernández Sampelayo, miembros de esta Academia, opinaron también que se trataba de esa especie.

En la tierra fósil de caracolillo existían igualmente ejemplares de *Cyclotella sexpunctata*. Bustinza se preocupó por conocer la localidad de donde procedía esa tierra de diatomeas y resultó ser Elche de la Sierra, que no figuraba como yacimiento de *Cyclotellas* en la Diatomología Española del Sr. Azpeitia. He aquí un hecho extraordinario, dice el Sr. Hernández Sampelayo: el de un investigador que estudiando unos esputos desde el punto de vista bacteriológico y después de un minucioso trabajo llega a señalar un nuevo yacimiento paleontológico en este caso de *Cyclotellas*.

Desde las primeras prácticas de laboratorio sintió el joven Bustinza la curiosidad y el deseo de conocer las técnicas enzimológicas para poder profundizar en el estudio de la Fisiología Vegetal, y siguiendo mi consejo decidí estudiar con el Profesor Dr. Robert Chodat, de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Ginebra, a donde se trasladó en octubre de 1927. Por entonces Chodat gozaba con Bach de reputación internacional en el campo de los fermentos oxidantes. Era el maestro Chodat, más que botánico profesional un bioquímico, y además, por su hispanofilia, resultaba para Bustinza persona altamente grata. Chodat había herborizado en el Sur de España y conservaba con las plantas recogidas inolvidables recuerdos de nuestra Patria. Con Chodat se adiestró Bustinza en el aislamiento y cultivo de levaduras, mohos y bacterias y en la obtención y caracterización de ciertos enzimas, asistiendo también a sus cursos de Fisiología Vegetal, Enzimología y Fermentaciones Industriales. Llevado de la mano de tan ilustre fisiólogo publicó, en colaboración con él, su primer trabajo de investigación, titulado *Sur la pseudoperoxydase, un nouveau ferment oxydant indirect, agissant par le moyen du peroxyde d'hydrogène*, que se publicó en 1928 en *Compte Rendu des Séances*, de la Société de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève.

Durante su estancia con Chodat en Ginebra se interesó Bustinza muy especialmente por la catalasa, enzima que por su distribución universal en los seres vivos ofrecía gran interés biológico y sobre la *La catalasa y sus aplicaciones a la Farmacognosia, Bromatología e Higiene* versó su tesis doctoral en Farmacia, que la leyó en octubre de 1928, y al año siguiente, en mayo de 1929, leyó su tesis doctoral en Ciencias Naturales, *Contribución al estudio bioquímico de la chufa*, ganando en 1930 por oposición los premios extraordinarios de Dr. en Farmacia y de Dr. en Ciencias Naturales. Ambas tesis doctorales fueron publicadas en la Revista de esta Real Academia.

Desde 1928, la principal preocupación científica de nuestro colega se concentró en la moderna quimurgia y publicó diversos trabajos en relación con la distribución de enzimas en los vegetales y sobre otros temas que figuraran distribuidos ordenadamente en su *Curriculum Vitae* publicado en 1959.

Con preparación científica tan extensa como presupone el material acumulado con tanto entusiasmo desde 1927 se presenta Bustinza en 1943 a las oposiciones a la Cátedra de Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias de Madrid, vacante por fallecimiento de nuestro compañero D. Antonio García Varela, y después de brillantes ejercicios gana la citada Cátedra. Pocos meses antes había sido elegido para la Real Academia de Farmacia, versando su discurso de ingreso sobre *Importancia de la Enzimología y aplicaciones de las enzimas*.

El advenimiento de la penicilina encontró a Bustinza especialmente preparado para captar la trascendencia del descubrimiento y del amplio campo de exploración que se abría como consecuencia de aquél. En los comienzos

del 1944 inicia sus investigaciones en el dominio de los antibióticos y hasta el presente ha publicado medio centenar de trabajos de investigación y otros tantos de divulgación y ha pronunciado más de sesenta conferencias sobre antibióticos. Entre esos trabajos destacan los relacionados con el ácido úsnico y la usnimicina, actividad antimicrobiana del *Penicillium funiculosum* y actividad antibacteriana del jugo de la parte carnosa de las semillas de la granada. Muy especialmente se ha interesado en la exploración de la actividad antibiótica de los líquenes de los géneros *Usnea*, *Cladonia* y *Lichina*, así como también del vulgar líquen islándico, cuya actividad terapéutica era conocida de antiguo, y él personalmente ha recogido algunos de los líquenes que ha estudiado, entre ellos la *Usnea canariensis* en la isla de la Palma.

Sobre el tema *Antibióticos de líquenes* dió varias conferencias. Una de ellas el día 29 de julio de 1950, en Abisko (Laponia Sueca), ante un selecto grupo de liquenólogos de diferentes nacionalidades, que habían asistido al Congreso Internacional de Botánica celebrado en Estocolmo, y poco después desarrolló ese mismo tema con carácter de divulgación en San Sebastián (Instituto de Peñaflores) y en Bilbao (Junta de Cultura de Vizcaya). Presumo que el novel académico, en estas dos conferencias en dos capitales vascas, dedicaría un recuerdo a aquella Institución famosa a la que tanto debe la cultura nacional, la Real Sociedad Vascongada de Amigos del País y a la Academia de Ciencias, Inscripciones y Bellas Artes de Tolosa, y de donde salieron los célebres químicos de Vergara y otros que sin dejar estela de celebridad contribuyeron con sus estudios a la explotación de las riquezas mineras de Vizcaya y a la evolución de la industria hoy tan floreciente de Guipúzcoa.

Bustinza, con sus conferencias, libros y trabajos sobre antibióticos, ha mantenido vivo en nuestra Patria el entusiasmo producido por la eficacia terapéutica de la penicilina y de los demás antibióticos que sucesivamente han sido descubiertos, hasta el punto de interesar al gran público en términos tales que en honor de Fleming se han dedicado bustos y estatuas en diferentes ciudades españolas, lo que no se hizo para el eminente investigador en otros países que recibieron como el nuestro el fruto de su trabajo desinteresado.

Es obra altamente meritoria ofrecer a la posteridad el recuerdo de una persona que empleó su vida en proteger del dolor y de la muerte la salud del prójimo. En este respecto resulta Bustinza un popularizador científico que con ansia apostólica interesa al gran público en pro de la Ciencia, contribuyendo a la finalidad que nuestro compañero Artigas denomina socialización científica en todas las zonas sociales, y que excluye todo problema de propiedad.

La figura moral de los hombres, como la de muchos hechos interesantes y aun familiares, queda en el ánimo de los demás cuando se los compara con otros conocidos: la de Bustinza admite un punto de comparación con la de otro investigador en su propia especialidad. Bustinza es un gran melómano, tanto que, ante dificultades de trabajo, o antes de dar una conferencia, se sienta al piano y ejecuta un *vals* de Chopin, o de *Liebesfreud* de Kreissler, o fragmentos de la *Invitación al vals* de Weber, o de *Coppelia* de Delibes, porque estima como Cervantes que la música clarifica la inteligencia, enturbiada por obsesiones muy frecuentes en la tarea investigadora. Entre nosotros pocos han sido, en los últimos años, los científicos amantes y ejecutantes de la música; quizá Urios, de la Universidad de Oviedo, y Esteve, de la de Madrid, fueron

pianistas tan buenos como Bustinza. El profesor melómano cuya semblanza científica y artística se asemeja en cierto modo a la que os estoy trazando es Borodin, hecha la salvedad de que éste fué además insigne compositor. Al preparar estas líneas y pensar en que Bustinza es profesor de Fisiología Vegetal y gran amante de la música, por asociación de ideas ha acudido a mi memoria el recuerdo de Borodin, el bioquímico investigador de la clorofila, que alcanzó la fortuna de aislar la succinimida de los productos de transformación de la clorofila, precursora de los pirroles que sintéticamente se agrupan en torno del magnesio para construir la gran molécula base de la existencia, por ser captadora de las radiaciones solares.

Voy ahora a comentar brevemente el interesante discurso que acabáis de aplaudir. Es una historia completa del descubrimiento de la penicilina, en que todos los episodios están matizados, en particular aquellos de que el conferenciante ha sido testigo.

En principio, el hallazgo de la penicilina se atribuyó como tantos otros a la casualidad, porque realmente fué casual la intromisión de un ser extraño, un moho, en la caja de Petri en que Fleming tenía un cultivo de estafilococo, puesto que todo bacteriólogo pone especial cuidado en evitar contaminaciones de sus cultivos, cuidado encomendado al operador, al que nuestro antiguo expresidente Carracido comparaba al de oficial de Aduanas. Antes que Fleming, muchos bacteriólogos habían visto sus cultivos de bacterias contaminados por mohos, e incluso alguno había prestado atención a esas contaminaciones; pero Fleming, especialmente interesado en el estudio de la actividad antibacteriana de los antisépticos, al ver que las colonias del estafilococo en las proximidades del *Penicillium* estaban en franca lisis, decidió analizar y estudiar con detenimiento el fenómeno, y después de varios meses de investigación pudo llegar a la conclusión de que el moho elaboraba una sustancia que se difundía al medio de cultivo y que era responsable de la inhibición del estafilococo y de otros microbios y que estaba desprovista de toxicidad frente a los leucocitos.

La lucha por la existencia la han mantenido siempre brutalmente las especies zoológicas y de modo callado e imperceptible las vegetales; he conocido un monte que en mi niñez estaba cubierto por dos especies del género *Eriea* y hoy esta planta ha sido expulsada por el boj, más apto para la vida en terrenos calizos que las *Ericas*; para imaginar la lucha entre una bacteria y un moho en un medio de cultivo artificial hay que ser muy perspicaz al suponer un antagonismo entre dos seres invisibles que no poseen en la apariencia medios de defensa o ataque; quizá por este motivo los bacteriólogos se refieren a un drama biológico, que lo es en realidad, porque uno de los contendientes perece.

Por tal motivo, con indiscutible acierto se dedica la primera parte del discurso al estudio de los precursores, incluyendo en ellos al que dispuso en primer término de lentes Leeuwenhoek, quien gracias a medio de visión tan poderoso observó animalículos en extractos de diversos vegetales; a Regnault, que conoció la actividad antituberculosa de los extractos del líquen islándico y del cual siglo y medio después aislaron Stoll y colaboradores el ácido úrico activo frente al bacilo causante de la tuberculosis; a Pasteur, que observó la acción del zumo de la cebolla sobre la levadura de cerveza, hasta Vuillemin, que en 1889 empleó por primera vez el término de *antibiosis*. Los trabajos publicados en este sentido no se multiplicaban como ahora ocu-

re cuando se ofrece un filón a explotar, pero no se abandonaron los precedentes, aunque siempre con finalidad terapéutica. El año 1897 señala una etapa más fructífera que las anteriores al publicar Duchesne su tesis doctoral relativa al antagonismo entre mohos y microbios, aunque siempre orientada a una posibilidad de uso terapéutico.

El antagonismo tampoco ha pasado inadvertido a nuestros contemporáneos, y el trabajo realizado por el Profesor A. Lode en 1903, está tan bien planteado que Florey lo ha calificado como una investigación actual en el campo de los antibióticos.

He aquí la razón del cálido homenaje que el nuevo compañero rinde a esos precursores, que sin los recursos actuales, sin técnicas adecuadas y sin ayuda de otros especialistas, lograron formar un cuerpo de doctrina corto, sí, pero ejemplar, y que ha servido para explicar los hechos conseguidos en los últimos años.

La exposición del descubrimiento de la penicilina y su desarrollo está bien fundamentada en el capítulo siguiente; ahora, dice Bustinza, todo ha sido extraordinario y providencial: extraordinario, sí, porque, al menos en la apariencia, se ve la adaptación de la mentalidad británica al tipo actual de investigación científica; a mediados del siglo XIX nos hallábamos ante dos tendencias en este orden: la británica que esperaba el éxito del rayo de inspiración y la de otros países que procedían con lógica hasta lograr, como decía un comentarista, que el razonamiento anulase a la razón.

Añade Bustinza que la demostración de las propiedades terapéuticas de la penicilina fué también providencial porque en momentos bélicos inusitados aparecía un medio de salvar de la muerte a multitud de heridos; mas no fué tarea sencilla el aislamiento de la penicilina. Era indispensable acudir a los químicos para aislar dicha sustancia de los medios de cultivo hasta conseguir un producto suficientemente puro; luego había que obtenerla en cantidades lo bastante elevadas para ensayar sus efectos terapéuticos y probar que en la práctica sucedía lo que Fleming había descrito, o sea, que la penicilina no interfería con la actividad de los leucocitos. Con las investigaciones de Florey, Chain, Heatley y demás colaboradores, que demostraron las propiedades quimioterápicas de la penicilina, comienza la era antibiótica entre bombardeos y desolaciones.

Inglaterra, a pesar del descubrimiento del radar, que fué un alivio extraordinario, no está, por las circunstancias de la guerra, en condiciones para montar una industria de la envergadura que exige la penicilina. Se impone la urgencia de trasladarse a los EE. UU., en donde como es lógico habría que debelar muchas dificultades y prevenirse contra toda sorpresa; para ello hay que buscar los más expertos técnicos en fermentaciones, los modernos quimúrgicos, y allí el equipo de Coghill, de Peoria, con la participación de la gran industria farmacéutica yanqui y con las rápidas decisiones del Gobierno, se emprende la formidable tarea de obtener en gran escala la penicilina.

Hasta estos momentos intervienen micólogos, bacteriólogos, químicos de fermentaciones, farmacólogos y clínicos; desde ahora el número de los laborantes en este problema ha de ser acrecido porque se necesita conocer la estructura química de la penicilina, evaluarla en los medios de cultivo para seguir la marcha de la producción, sintetizarla si fuera posible, puesto que la síntesis confirma la exactitud de la estructura. Las primeras figuras de la química inglesa van a participar en esta obra formidable, dándose el ejemplo

más notorio de colaboración, del feliz resultado del trabajo en equipo y hasta del silencio impuesto como consecuencia de las actividades marciales. Nunca una sustancia orgánica, por importante que haya parecido, se ha disecado y se ha recompuesto con tanta celeridad como la penicilina, gracias a la colaboración estrecha de los químicos del Imperial College of Science and Technology, entre ellos Heilbron y Cook; los de la Universidad de Oxford, con Abraham, Chain, Robinson y Baker; los de varias Universidades de los Estados Unidos, y los de los laboratorios privados de las empresas farmacéuticas norteamericanas: Merck, Parke-Davis, Squibb, etc.

La molécula de la penicilina puede considerarse formada por dos aminoácidos y una cadena lateral acílica variable según el tipo de penicilina. Los aminoácidos son la D-valina y la L-cisteína, ligados entre sí no por enlace peptídico, sino formando la estructura tiazolidín-betalactámica, específica de las penicilinas y alrededor de la cual se ha desplegado un volumen de trabajo extraordinario que ha abierto y despejado nuevos campos de investigación en la química de las sustancias orgánicas heterocíclicas.

Voy a referirme brevemente al primer producto obtenido por degradación de la penicilina mediante hidrólisis con ácidos minerales; se trata de un nuevo alfa-aminoácido, la D-penicilamina o D- β -dimetilcisteína o D- β -mercapto-valina, que se ha sintetizado por diversos métodos, sustancia que por su grupo SH tiene la propiedad de formar quelatos con los iones de metales divalentes, especialmente de cobre, plomo y mercurio. Hace pocos años, en 1956, Walsh señaló la utilidad de la penicilamina para favorecer la excreción del cobre en los casos de degeneración hepato-lenticular o enfermedad de Wilson, en la que hay depósito excesivo de cobre en el cerebro y en el hígado. En ese sentido se emplea actualmente por vía oral el clorhidrato de la D-penicilamina y no se utiliza en cambio la forma L, por cuanto resulta tóxica debido a que provoca deficiencia aguda y crónica de piridoxina o Vitamina B₆.

La obtención industrial del ácido 6-aminopenicilánico por la acción de la penicilin-amidasa de origen microbiano sobre la bencilpenicilina, abre a los especializados en la síntesis orgánica un campo potencialmente fértil y prácticamente inagotable, ya que a partir del 6-aminopenicilánico se pueden obtener por síntesis una variadísima gama de cuerpos nuevos, las *penicilinas semisintéticas*, cuyo radio de acción terapéutica puede ser más amplio o diferente del de la bencilpenicilina, de uso corriente hasta estos últimos años.

En el capítulo final, que titula «sinfonía antibiótica», el nuevo colega describe algunos de los más modernos antibióticos elaborados por *Streptomycetes*, bacterias y mohos, y ofrece dos temas, uno el modo de acción de los antibióticos y otro de índole más filosófica, ¿para qué les sirven esas sustancias a los seres que las sintetizan?

En cuanto al primero, hay mucho que estudiar aún, pero no dejo de ver con cierta satisfacción cómo se sustraen los actuales investigadores al concepto de la semipermeabilidad celular y van directamente a la búsqueda de los constituyentes de la pared de las células bacterianas, logrando aislar nuevas sustancias, entre ellas los ácidos diaminopimélico y murámico, y hoy se interpreta que la penicilina interfiere con la síntesis de los mucopéptidos de los que depende la rigidez de la pared de la célula bacteriana, rompiéndose la membrana celular y dejando indefenso al citoplasma.

He advertido de la índole filosófica del segundo tema planteado, porque

de muchas especies vivientes se sabe cuál es la finalidad de las variadas sustancias que sintetizan: lo que se mantiene casi en firme acerca de los alcaloides en las plantas, ¿es asimilable a los antibióticos? En parte es cierto porque constituye para aquéllas y para los microbios productores de antibióticos un medio de defensa; pero sí se ha deducido algo útil para el hombre y los seres que colaboran en su vida, pues gracias a los antibióticos la nuestra se prolonga. No lo dudo, pero creo con más firmeza que la moderación en los hábitos alimenticios, la calefacción y el ascensor tienen tanta parte en la prolongación de la vida humana como los antibióticos.

En lo que estoy de acuerdo absoluto con el beneficiario es que en años venideros lograrán los que nos sucedan disipar las dudas que hoy mantenemos con tanta angustia. No creo improbable que el Profesor Bustinza se halle entre esa pléyade de hombres que iluminen en la oscuridad los nuevos horizontes que prevé al final de su discurso, y ello será nuevo motivo de alegría por haberlo recibido en esta Casa, en nombre de la que le ofrezco el saludo más apasionado, con el deseo de que honre a la Academia con sus investigaciones futuras.

INDICE

	<u>Páginas</u>
DISCURSO DEL DR. FLORENCIO BUSTINZA.	
1.—Los precursores	1
2.—Descubrimiento de la penicilina y su desarrollo ...	11
3.—Sinfonía antibiótica	30
4.—Bibliografía y notas adicionales	39
DISCURSO DEL DR. OBDULIO FERNÁNDEZ	45