



## ANTECEDENTES QUÍMICOS DEL AZUL DE METILENO

---

**U**NA importante cuestión científica se ha planteado recientemente por el ilustre académico de la Real de Ciencias, Bellas Letras y Nobles Artes de Córdoba, Dr. D. Arcadio J. Rodríguez. Este distinguido clínico, tan entusiasta del noble ejercicio de la Medicina como paciente investigador de los misterios del Laboratorio, ha tenido ocasión de comprobar un hecho que, hasta ahora, ha permanecido ignorado—al menos la prensa profesional nada ha dicho nunca—y que envuelve una extraordinaria importancia.

Como medio diagnóstico para reconocer la permeabilidad de los riñones, se viene usando, desde hace largos años, el azul de metileno que, inyectado o ingerido, se elimina por la orina, tiñéndola de azul-verdoso en los casos de normalidad renal. Cuando la secreción urinaria no acusa con su color evidente el paso del medicamento, es lógico suponer la obstrucción del filtro y establecer las clasificaciones sintomáticas para definir la enfermedad.

Pero ocurre que no siempre la orina aparece teñida de azul, a pesar de funcionar normalmente el órgano de eliminación, y, lo que es más notable, la orina, que en este caso aparece de su color habitual, amarillento, se vuelve azul al cabo de algún tiempo, especialmente si se agita con viveza. Por el contrario, orinas coloreadas por el azul de metileno, se decoloran espontáneamente y de un modo rápido si se mezclan con orina añeja.

Este curioso fenómeno en una substancia en cuya estabilidad se confiaba en los análisis clínicos que habían de reglamentar la salud y vida humanas, ha producido la natural alarma. Ya no es posible admitir la certeza de las indicaciones de aquel servidor, sorprendido en flagrante delito

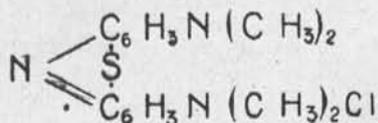
de infidelidad. Pero es indispensable hallar las causas de estas irregularidades para poder corregir, cuando sea preciso, las faltas observadas, valorando, hasta donde sea posible, la utilidad de aquella substancia a quien también se atribuyó un alto poder antiséptico, que la experiencia se ha visto obligada a discutir primero y reducir a límites estrechísimos después.

Para realizar en forma metódica y, por consiguiente, de un modo sencillo y práctico aquella valoración, es indispensable, ante todo, conocer la estructura del interesante compuesto, indagar sus orígenes, reconstituir el cuadro de sus propiedades y deducir, si es posible, su comportamiento en las complicadas evoluciones biológicas, mejor adivinadas que conocidas.

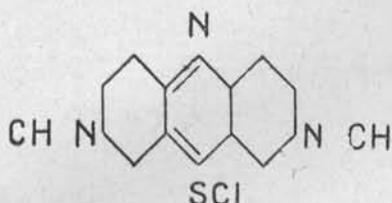
Al revisar diversos y modernos tratados de Química, algunos tan completos y detalladísimos como los de Schmidt y Molinari, sorprende la extraordinaria extensión con que se ocupan de cuerpos de importancia relativa, bien por estar en desuso, bien por haber caído en los dominios de lo vulgar, y la escasez de aportaciones que hacen sobre aquellos otros que tienen puesto preferente en la Terapéutica o en las Artes, y de los que, a lo sumo, indican una fórmula probable o algunas líneas confusas dedicadas a establecer lejanísimas relaciones de parentesco con otros, que, a la vuelta de cientos de páginas, aparecen rodeados también de nebulosas impenetrables. Tal ocurre, entre multitud de casos, con el que nos ocupa. La innegable importancia del mismo, aunque sólo se considere como materia colorante de uso frecuente en el teñido de sedas y lanas, o como reactivo de constante manejo en microbiología, hacían esperar que mereciera los honores de una monografía detallada; pero una vez más, los autores, por tácito convenio, se reducen a una ligera mención, tan ligera que aún los analistas que hemos consultado ni siquiera se ocupan de él y, lo que es peor, tampoco indican las fuentes para su estudio: tan solo Krauch, al citarlo de pasada, hace referencia a algunas revistas alemanas de remota fecha; pero no tenemos facilidad para adquirirlas y por tanto no podemos utilizarlas para orientarnos en su conocimiento.

Al estudiar las fórmulas que los distintos autores consultados asignan al azul de metileno, surgen nuevas confusiones que contribuyen a obscurecer la constitución molecular del compuesto que nos ocupa. En tanto que unos lo derivan, al parecer, de dos núcleos benzénicos, por sucesivas oxidaciones y reducciones, otros indican la posibilidad de un origen sulfónico que, a través de un proceso análogo, ha dado lugar a la interposición de un núcleo tiazínico entre dos aminas fenólicas. Para mayor claridad copiamos a continuación las fórmulas que expresan estas posibles procedencias.

Schmidt le atribuye la siguiente:



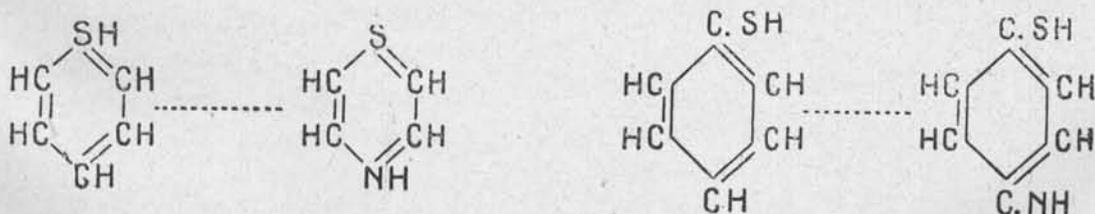
Carré, por el contrario, le asigna esta composición:



Como vemos, el primero parte del supuesto de que el Cl está unido directamente al N amínico por la propiedad que éste tiene de cambiar fácilmente de dinamicidad pasando a pentavalente; el segundo enlaza al halógeno con el S, que ha de ser tetravalente en este caso. Una y otra son posibles, al menos teóricamente, y acaso esta distinta agrupación, que dependerá del procedimiento operatorio, sea causa de las diferencias que se observan en algunas propiedades del cuerpo en cuestión.

Enmedio, pues, de esta confusión y de la falta de datos concretos para esclarecer este problema, al que nos atrae la curiosidad y nos empuja el espíritu profesional que tan imperiosamente obliga, nos decidimos a acometer la empresa. ¡Que la belleza del fin sea disculpa del atrevimiento y atenúe la responsabilidad de los errores!

Sabido es que los fenoles tienen cierta facilidad para cambiar el oxhidrilo funcional por el radical SH, originando *tiazoles* capaces, a su vez, de producir derivados aminados, comparables con las *tiazinas* derivadas de los *tiofenos*.

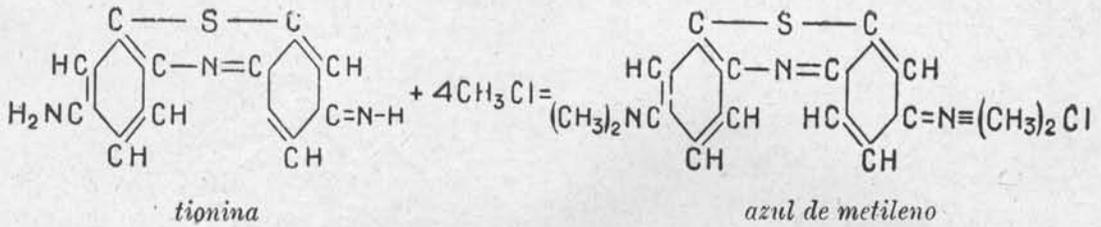


Lo mismo las tiazinas que los aminotiazoles pueden unirse a los grupos bencénicos formando *fenotiazinas*, y esta propiedad nos sirve de base para intentar llegar a la formación del azul de metileno.

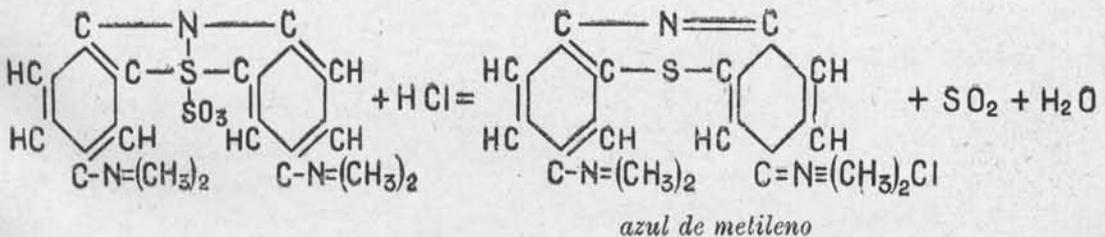
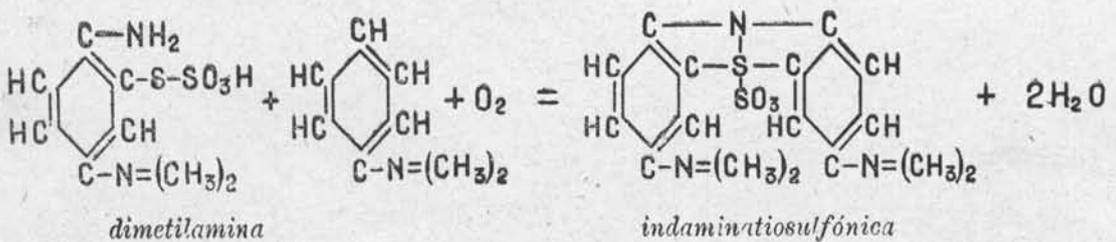
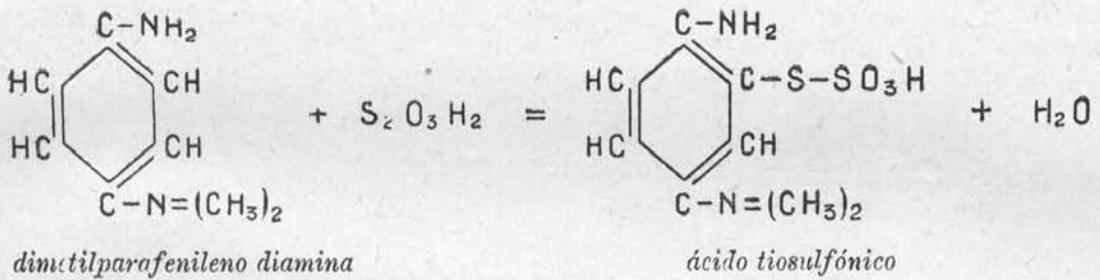




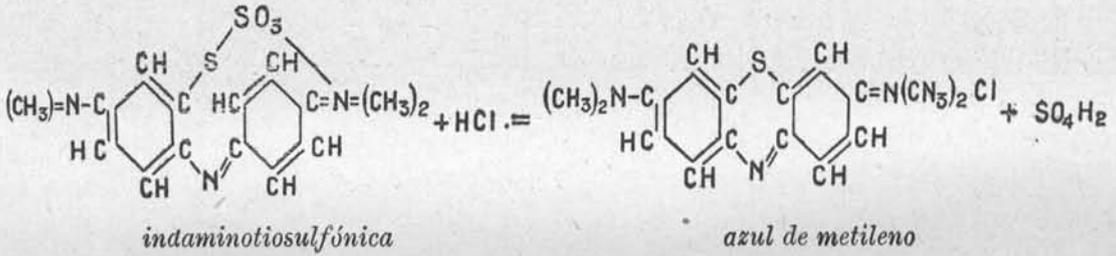
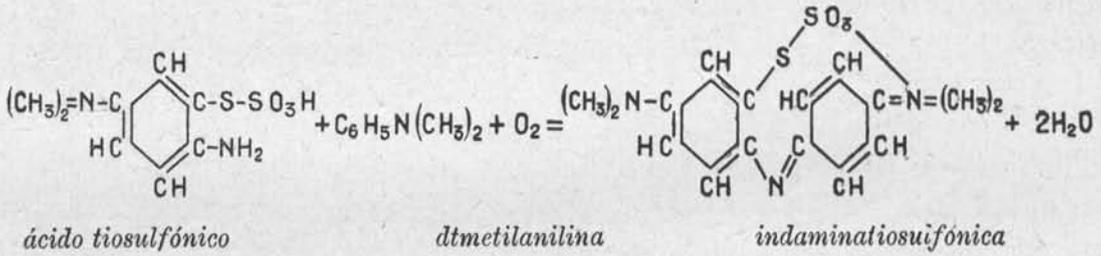
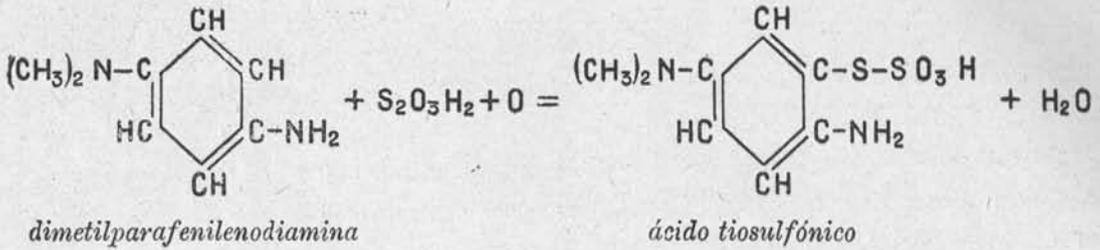
resta sólo transformar este último término en azul, mediante el empleo del cloruro de metilo, cuerpo usado precisamente en la metilación de muchas materias colorantes, con preferencia al ioduro, que da ácido iodhídrico muy reductor.



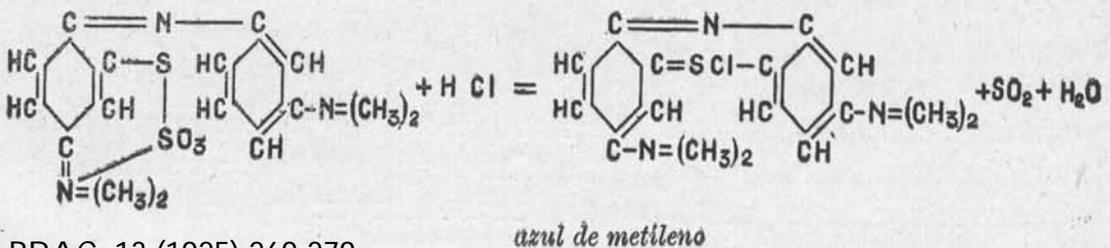
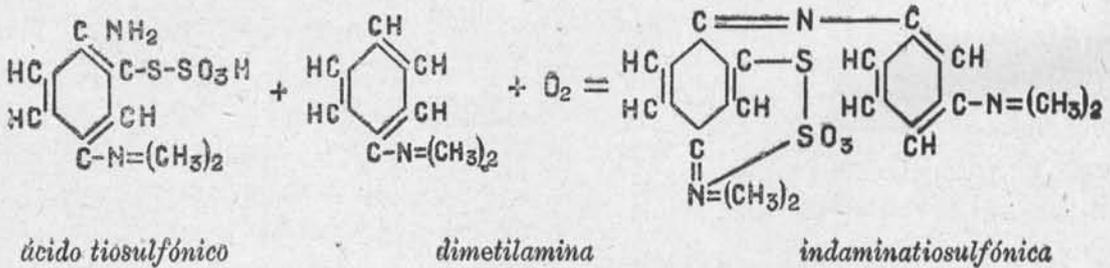
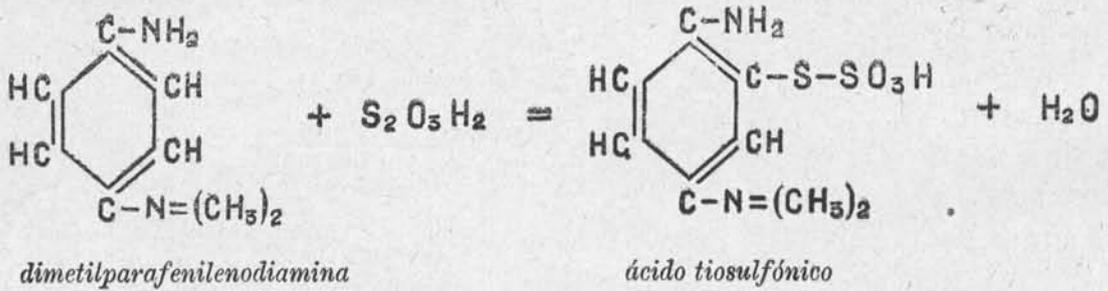
No es éste, a pesar de su aparente sencillez, el camino que sigue la industria, pues ésta parte de la dimetilparafenilenodiamina, sometiénola a la acción del  $\text{H}_2\text{S}$ , o del tiosulfato sódico y del  $\text{Cl}_2$  Fe, en presencia de dimetilaminina en solución ácida. Las reacciones pueden expresarse de este modo:



Difieren considerablemente de esta estructura que asignamos a la indamina, las fórmulas que hemos encontrado después de pacientes averiguaciones. He aquí las expuestas por uno de los autores:



Según Carré las cosas ocurren de este modo:



En todos los casos se separa el azul mediante la mezcla de  $\text{ClZn}$  y de  $\text{ClNa}$  al estado de clorozincato.

Hemos procurado seguir paso a paso las distintas fases de la generación del cuerpo que nos ocupa, reconstituyendo con los fragmentarios y dispersos materiales la probable arquitectura molecular del mismo, de la cual se han de derivar como consecuencias las propiedades que intentamos investigar.

Los analistas sólo indican, aparte de su aspecto, que es soluble en agua, algo menos en alcohol y que en presencia del ácido sulfúrico y nítrico da un color verde intenso; pero nada más que pueda servir para identificarlo y separarlo de otras materias colorantes con las que pudiera confundirse. Es más: circulan en el comercio al menos dos tipos de azul bastante diferentes en su tono de color; pues ni en eso paran mientes los químicos que hemos consultado, no obstante que pudiera ser debido el hecho a la presencia de  $\text{Cl}_2\text{Zn}$  procedente de su fabricación y cuya toxicidad haría peligroso el empleo del azul especialmente por vía hipodérmica.

De nuestras experiencias resulta que es un polvo de color y aspecto bronceado, cristalino, (1) al parecer en prismas, soluble en agua pura, alcohol, éter, acetona, benceno, alcohol metílico, glicerina, dando en todos los casos un líquido azul intenso, transparente en pequeño espesor. Es también soluble en ácido clorhídrico, con color azul; en el nítrico, con igual color pero más oscuro y en el sulfúrico, dando un líquido verde brillante.

Calentado en tubo cerrado, desprende algo de agua, cambia al color verde y por último al pardo, sin fundirse ni volatilizarse, produciendo un olor hartamente desagradable.

La solución (0.5 por mil) no se altera por la adición de los ácidos acético, tártrico ni tánico. Tampoco varía por el amoniaco ni sales amoniacaes—cloruro, oxalato, ni carbonato—pero con  $\text{NaOH}$  da lentamente un hermoso viraje al rojo violáceo, con formación de un precipitado rojo.

El hidrógeno, ácido sulfhídrico, cloruro estafnoso, glucosa, acetona, no alteran la solución, ni aún a la ebullición. El cloro decolora total y rápidamente el líquido, que persiste incoloro al cabo de algunos días. El cloruro manganesoso la convierte en verde; pero si se añade al líquido  $\text{MnO}_2$  y  $\text{HCl}$  simultáneamente para producir en su seno el  $\text{Cl}$ , se obtiene un color violeta que pasa lentamente al azul pálido. El hiposulfito sódico no actúa sobre la solución; pero agregándole algo de  $\text{SO}_4\text{H}_2$ , y mejor haciendo la mezcla antes, decolora rápidamente el azul tardando bastante tiempo en recobrar su color primitivo.

También se consigue una pronta decoloración añadiendo al azul un po-

co de estaño y ácido clorhídrico, a pesar de que, como hemos dicho, el  $\text{Cl}_2\text{Zn}$  sólo no actúa sobre la solución; del mismo modo ocurre si se emplea  $\text{Zn}$  y  $\text{HCl}$ , pero en este caso no es tan rápida la decoloración. En ambos casos retorna al azul antes de las 48 horas. El sulfocianuro amónico da un precipitado violeta y el ferrocianuro potásico vuelve verde el líquido dejando un depósito azul. Con bicromato potásico se forma un precipitado rojo, quedando el líquido teñido de este color.

La mezcla sulfonítrica ya indicada, produce un color verde intenso, brillante de verde de metileno. Es muy interesante la acción de  $\text{KI}$ : aún en soluciones muy diluídas, 0,1 por mil, produce un precipitado azul en líquido verde claro; pero agregando algo de ácido sulfúrico, y mejor haciendo previamente la mezcla del ioduro y del ácido, se obtiene un precipitado púrpura en el seno de un licor rojo de un bello matiz, que pasa poco a poco al amarillo a medida que se deposita aquél.

El reactivo de Esbach produce un precipitado azul-negro en líquido verde amarillento. El peróxido de nitrógeno (vapores rojos) no actúa.

Hasta aquí hemos llegado en la determinación de los caracteres químicos del azul de metileno: la falta de dispositivos adecuados nos ha impedido seguir investigando los interesantes aspectos de sus acciones químicas; creemos sin embargo suficientes para nuestro objeto los indicados, referentes en su mayoría a los efectos de oxidantes y reductores que, como hemos visto en las distintas génesis teóricas, son los determinantes de su color.

Resalta entre el conjunto de reacciones anteriormente expuestas la curiosa analogía de los efectos producidos por dos cuerpos funcionalmente distintos: el  $\text{Cl}$  y el  $\text{SO}_2$ . Ambos provocan la decoloración del azul; no obstante el primero es oxidante y el segundo reductor, siendo, por lo demás, los únicos de sus respectivos grupos que causan aquel fenómeno con mayor permanencia.

Considerando los efectos del gas sulfuroso podemos explicarlos por el hecho de que la indamina tiosulfónica pierde dicho gas al transformarse en tetrametiltionina, en cuyo caso es lógico admitir que se regenera aquella, al adquirirlo. También sería explicable en nuestra concepción de los orígenes del azul porque siendo la tionina producto de la oxidación de la leucobase, al reducirse aquella, se retroceda a ésta.

Pero ¿cómo explicar los efectos del cloro? Si en la complicada trama de la tetrametiltionina quedara retenido, bien bajo la forma de un policloruro o bien fijándose en alguno de los núcleos, es admisible la formación de  $\text{HCl}$  que, como hemos visto, no ejerce variación alguna en el azul, lo que hace pensar que aquellos derivados clorados habían de ser también azules o por lo menos coloreados, y esto lo corrobora al disolver el azul sólido en  $\text{HCl}$ , pues se obtiene un líquido azul intenso; luego la acción de  $\text{Cl}_2$  no puede atribuirse al hecho de su fijación en la molécula.

Si comparamos esta acción con las que producen el  $\text{Cl}_2\text{Sn}$  y el  $\text{Cl}_2\text{Zn}$  observaremos que estos compuestos no actúan sobre el azul, pero cuando se forman en su seno lo decoloran, lo que nos induce a creer que el hidrógeno naciente formado es quien efectúa la decoloración de la tionina. ¿Ocurrirá lo propio con el cloro? ¿Será que éste separa H de aquélla determinando la reducción, que no es capaz de evitar el HCl formado al mismo tiempo? En este caso habría que considerar al halógeno como reductor y no como oxidante (1). Reconocemos lo atrevido de la suposición, a pesar de ser admitida en la actualidad la discontinuidad de las acciones químicas, pero no encontramos otro medio de explicar el curioso fenómeno que guarda estrecha relación con los hechos causantes de este modesto ensayo.

Como vemos, no puede atribuirse la decoloración in vitro del azul sino a poderosas aunque suaves fuerzas reductoras y habrá que buscar causas análogas para la decoloración in vivo. Circulan por nuestro organismo ciertas substancias, no bien conocidas aún, que poseen en alto grado poderes oxidantes o reductores; oxidasas y reductasas llaman los biólogos a estos fermentos, que guardan, dentro de su masa insignificante, enormes veneros de energía. A ellos debe la pepsina su poder solubilizante de los albuminoides, el cuerpo tiroides sus efectos regularizadores de la oxidación sanguínea; las lipasas su propiedad de saponificar las grasas, etc. En las cimisas reductoras del tipo de la catalasa debemos, pues, buscar los agentes de la conversión del azul en su leucobase, como lo convierte la lactasa en la leche alterada.

Pero estas reductasas no sólo las produce el organismo normal: también las elaboran los microorganismos parásitos. Protozoos, bacterias y hongos colaboran en la formidable labor de los órganos humanos, operarios infatigables de un inmenso laboratorio donde todo se hace en la obscuridad del misterio. ¿A quienes atribuiremos la destrucción del azul? ¿A los fermentos propios del aparato renal o a gérmenes patógenos que anidan en él? Es un hecho probado que la pulpa del riñón transforma la nitrobencina en anilina y la creatinina en creatina, y que la hemasa de la sangre descompone el agua oxigenada; operaciones reductoras características; pero también está probada la acción oxidante de las bacterias como el bacillus lacticus, subtilis y mesentericus, del bacterium thermo, mycoderma vini, proteus vulgaris, etc., que bien pueden tener contrincantes reductores, como los micrococcus que descomponen los nitratos en N y NO, o ser ellos mismos capaces de ejercer ambas funciones sin que pueda extrañar esta conducta por cuanto es sabido que pueden cambiar de vida, ya aerobia, ya anaerobia, en las distintas fases de su desarrollo y en

(1) Siendo así explicaríamos su acción sobre el agua de este modo:



la variabilidad del medio. La presencia de microorganismos activadores de las cimasas, parece confirmada con las experiencias de Tromsdorff que no encuentra reductasas en la leche fresca esterilizada, de lo que se deduce que la lactasa es producto de la secreción microbiana.

Reducida la cuestión a este dilema creemos que es más fácil de resolver. En efecto, la presencia de cimasas naturales en el organismo ha de ser normal en todo momento, pues constantemente han de llenar sus complicadas funciones en el incesante intercambio químico-celular; podrá variar en cantidad o en modalidad, pero no faltan seguramente. El hecho de que en los grandes periodos febriles desaparezca el glucógeno del hígado, puede interpretarse como una variación de su función destructora de la glucosa, variación que no prueba su ausencia sino su semejanza con aquellos fermentos capaces de cambiar de vida y por tanto de propiedades. Y puesto que el azul de metileno se elimina por la orina tiñéndola característicamente, no sólo durante la normalidad fisiológica del riñón, sino también en gran número de situaciones patológicas, es lógico creer que no son las cimasas elaboradas por el parenquima renal las causantes de la decoloración.

Hay que concluir, pues, que el notable hecho es debido a la presencia de ciertos microbios en el aparato urinario y que estos microbios son capaces de segregar cimasas especiales reductoras en alto grado o de modificar aquellas otras propias del órgano renal, ejerciendo parecida acción a la de los fermentos de la putrefacción incapaces de obrar en tanto que otra cimasa no peptonice previamente los albuminoides.

No hay que olvidar que si todos los organismos son semejantes entre sí, cada uno posee funciones propias y específicas y que es frecuente utilizar en Química causas muy diferentes para conseguir iguales resultados. Por eso, a lo largo de nuestro trabajo, no hemos pretendido comprobar la firmeza de los viejos cimientos de la Química, ni penetrar en la profundidad de sus misterios, reservados a las inteligencias que adquirieron clarísimos esplendores en el crisol del estudio. Sólo nos propusimos recoger este grano de arena pensando que algún día otro obrero más hábil sabrá tallarlo y engarzarlo en la diadema de la Ciencia.

ANTONIO GONZÁLEZ SORIANO

1924, 31 de Mayo.

## **BIBLIOGRAFIA**

---

- CARRACIDO, JOSÉ R.—Química Biológica.
- CARRÉ, PEDRO.—Compendio de Química Industrial.—Barcelona, 1920.  
vol. II.
- DORRONSORO, BERNABÉ.—Análisis Químico.
- FARMACOPEA ESPAÑOLA VII Ed.
- FERNANDEZ, OBDULIO.—Química Orgánica.—Serie cíclica.—Granada, 1909.
- FORNEAU Y MADINAVEITIA.—Síntesis de Medicamentos Orgánicos,
- JAVET, EMILE.—Chimie.—París 1922, ed. 41.<sup>a</sup>
- KRAUCH.—Reactivos Químicos.—Trad. E. Mascareñas.
- MOLINARI.—Química Industrial.—Barcelona, 1915, vol. II,
- SCHMIDT, ERNESTO.—Química Farmacéutica.—Barcelona, vol. III.
- VITORIA, P. EDUARDO.—La Catalisis Química.—Barcelona, 1912.
- WAGNER, RICARDO.—Química Industrial y Agrícola.—Trad. J. Ribera,  
vol. II.
- THORPE, SIR EDWARD.—Enciclopedia Química Industrial.