

Centro de Histoterapia Placentaria (Planta)

EMPLEO DE PLACAS FILTRANTES CUBANAS EN EL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE MELAGENINA LOCIÓN

Guillermo Lago Mendoza,¹ Patricia Melgares Hernández,² Gabriel Coto Valdés,³ Loida Oruña Sánchez⁴ y María de los Ángeles Jiménez Gómez⁵

RESUMEN

La melagenina loción es un medicamento extraído de la placenta humana e identificado como una lipoproteína de bajo peso molecular, que ha demostrado su eficacia en la cura del vitiligo. Durante el proceso productivo de obtención de dicho extracto se emplea un sistema de placas de celulosa en la estación de filtración del Centro de Histoterapia Placentaria, Planta. El presente trabajo tiene como objetivo el empleo y evaluación de placas de producción nacional modelo Filtec 00 producidas en la Unión Investigación Producción Cuba 9 para la obtención del producto, para ello se evaluó el filtro teniendo en cuenta algunos criterios de operación además de los parámetros de control de la calidad del medicamento.

Descriptor DeCS: LIPOPROTEINAS; EXTRACTOS PLACENTARIOS; CALIDAD DE LOS MEDICAMENTOS; FILTRACION; INDUSTRIA FARMACEUTICA.

La melagenina loción es un extracto alcohólico de placenta al 50 %, cuyas propiedades bioestimulantes le confieren una notable eficacia en el tratamiento del vitiligo. La historia de este aporte científico cubano a la ciencia mundial se inició cuando el doctor *Carlos Miyares Cao* encontró "de forma casual" una sustancia que al administrarse a los animales de experimentación, les producía un aumento de la pigmentación.

El vitiligo es una enfermedad en la cual se pierde progresivamente el color de la piel, se caracteriza por la aparición de manchas blancas en el rostro, las extremidades y la región genital.¹ Se conoce que en la melagenina loción existe un factor melanocitopoyético identificado como una lipoproteína de bajo peso molecular que ha demostrado su eficacia en la cura del vitiligo.¹

¹ Licenciado en Química. Investigador Auxiliar.

² Licenciada en Química.

³ Doctor en Ciencias Veterinarias. Investigador Titular.

⁴ Médico Veterinario.

⁵ Ingeniera Química.

El presente trabajo tiene como objetivo la posibilidad de empleo de placas filtrantes de producción nacional, modelo Filtec 00, elaborada en la Unión Investigación Producción (UIP) Cuba 9, Quivicán, en la estación de filtración de la Planta de Histoterapia Placentaria para la producción de la melagenina loción.

MÉTODOS

En el presente trabajo se hace una valoración de laboratorio y más tarde se procede a evaluar las placas cubanas a nivel industrial en 2 lotes de melagenina loción. Se tuvo en cuenta algunos parámetros de operación del filtro y como criterio los análisis de control de proceso, control químico, análisis cromatográfico y las pruebas de control biológico.

Se emplearon placas de 34 x 34 cm de celulosa tipo Filtec 00 que según criterios del fabricante presentan las especificaciones técnicas siguientes:

Filtrabilidad: 1 300 L/m² min
Agua: 1 atm
Espesor: 2,5 mm
Peso básico: 950 g/m²

Trabajo preliminar de laboratorio: Se tomaron 100 mL de un extracto de melagenina loción y se filtraron a través de las placas filtrantes de referencia. Se realizó el análisis de residuos secos por evaporación antes y después de filtrado; la diferencia obtenida de los residuos secos da una medida de la cantidad de sólidos insolubles retenidos en la placa. La relación con respecto a los sólidos totales multiplicados por 100 permite calcular el porcentaje de remoción de sólidos insolubles empleando la placa filtrante cubana según la ecuación:

$$\% \text{ Remoción} = (Rs(0) - Rs(1)) * 100 / Rs(0)$$

donde: Rs(0) y Rs(1) son los residuos por evaporación de 5 mL de solución obtenidos antes y después de filtrado por la placa. Se tiene en cuenta el análisis mediante espectroscopia de absorción UV a 2 longitudes de onda de 263 y 410 nm, característico del espectro de la melagenina, donde se midió la absorbancia antes y después de filtrar, haciendo el análisis por sextuplicado.

Proceso tecnológico. El proceso en cuestión constó de 3 etapas de extracción y 3 de filtración, en el que se emplearon alcohol etílico comercial como solvente y decalite como medio filtrante.

Las etapas de filtración se realizaron en un filtro prensa modelo Wolkfarth con 24 placas de celulosa de producción nacional fabricadas en la UIP Cuba 9.

Se midieron como parámetros de operación, la presión manométrica del equipo (bar), el tiempo de filtración (minutos), el volumen de fluido a filtrar y el extracto filtrado en litros.

El proceso descrito se realizó para 2 lotes de melagenina loción con el empleo del mismo tipo de placa.

TÉCNICAS ANALÍTICAS DE CONTROL

Control del proceso. Este se realizó para cada producto extraído del filtro y la unión de los 3 extractos; se analizaron parámetros como pH, porcentaje de etanol, densidad y las pruebas α -amino y L-dopa de acuerdo con las técnicas de control de proceso validadas por el Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM) que se emplean en la producción de la melagenina loción.

Control químico. Este se realizó para cada producto extraído del filtro como es pH, densidad (g/mL), porcentaje de alcohol, residuos de evaporación (mg/100mL), L-dopa (L-dihidroxifenilalanina) (mg/mL), nitrógeno total (mg/100mL).²⁻⁴ Estos resultados se compararon con los rangos límites establecidos para el producto y una melagenina tomada como referencia.

Control biológico. Para corroborar la efectividad del medicamento se realizaron algunos ensayos biológicos, y con este fin se montaron y trataron 3 grupos de animales, donde se midió una media en el conteo de melanocitos/mm² para cada grupo. Estos datos se procesaron estadísticamente según la prueba de Kruskal-Wallis⁵ y la prueba complementaria de Student-Newman-Kesels (SNK)⁵ para un nivel de significación de 0,001.

Fraccionamiento proteico con el empleo de cromatografía líquida. Como medida de comparación entre las diferentes fracciones proteicas que forman parte del medicamento obtenido con el empleo de las placas cubanas, se realizó un fraccionamiento proteico mediante una técnica de filtración por gel, para lo cual se utilizó una columna rellena con Sephadex LH-20 preparada con un sistema de solventes etanol: agua (1,8:1). Este trabajo se realizó en un equipo de cromatografía líquida a

bajas presiones conocido como FPLC de la firma Pharmacia-LKB con las condiciones experimentales siguientes:

- Forma de ejecución: manual.
- Forma de elución: isocrática.

RESULTADOS

En la tabla 1 se dan a conocer los resultados de los ensayos preliminares de laboratorio para valorar la factibilidad de empleo de las placas.

En la tabla 2 se reportan los parámetros de operación del filtro para el primero y segundo lotes de melagenina con el empleo de placas filtrantes cubanas.

El análisis de control de proceso se comportó muy similar para ambos lotes con valores iguales a los obtenidos cuando se emplean otros sistemas de filtración convencionales (tabla 3).

TABLA 1. Resultados de ensayos de laboratorio

No.	Rs(0)	Rs(1)	Ab263(0)	Ab410(0)	Ab263(1)	Ab410(0)
1	0,0042	0,0008	2,675	1,050	2,421	0,690
2	0,0040	0,0008	2,717	1,038	2,542	0,742
3	0,0040	0,0008	2,712	1,015	2,414	0,663
4	0,0040	0,0008	2,879	1,046	2,238	0,697
5	0,0041	0,0008	2,876	1,059	2,275	0,742
6	0,0041	0,0008	2,869	1,065	2,657	0,799
\bar{X}	0,0041	0,00073	2,788	1,0455	2,4245	0,7155

Rs (0) y Rs(1): residuos por evaporación obtenidos a partir de 5 mL de solución.
Ab263(0) y Ab410(0): valores de absorvancia de la solución cruda antes de filtrar.
Ab263(1) y Ab410(1): valores de absorvancia después de filtrar.

TABLA 2. Parámetros de operación del filtro en el primero y segundo lote de melagenina con el empleo de placas filtrantes cubanas

	I Filtración		II Filtración		III Filtración	
	Lote 1	Lote 2	Lote 1	Lote 2	Lote 1	Lote 2
No. de placas	24	24	24	24	24	24
Tiempo de filtración (min)	20	20	15	10	15	20
Presión (bar)	1,0	1,1	1,8	1,4	1,2	1,2
Volumen de fluido crudo (L)	208	167	160	128	167	130
Volumen de fluido filtrado (L)	175	140	159	127	156	125

TABLA 3. Análisis de control de proceso

	pH		% etanol		Densidad		α-amino		L-dopa	
	1 Lote	2 Lote	1 Lote	2 Lote	1 Lote	2 Lote	1 Lote	2 Lote	1 Lote	2 Lote
I Filt	7	7	70	67	0,9	0,9	p	p	p	p
II Filt	7	8	90	86	0,8	0,8	p	p	p	p
III Filt	7	7	85	81	0,9	0,9	p	p	p	p
M	7	7	85	81	0,9	0,9	p	p	p	p

p: ensayo positivo; M: valores medios obtenidos; Filt: filtración.

TABLA 4. Análisis químico de control

	Rangos permisibles	Producto	
		Lote 1	Lote 2
Características organolépticas	Líquido transparente puede presentar precipitado, color amarillo, olor característico	Cumple	
Densidad (g/mL)	0,83-0,904	0,85	0,85
pH	6,5-7,9	7,34	7,34
Residuos de evaporación (mg/100mL)	0,2-0,5	0,308	0,35
Nitrógeno total (mg/100mL)	10-20	10,64	
L-dopa (mmol/mL)	0,0025 ± 0,0007	0,0020	0,00182

L-dopa: es L-dihidroxitifenilalanina.

El análisis de control químico permitió establecer criterios acerca de los productos filtrados a través de las placas cubanas. En la tabla 4 se presentan algunos análisis de control químico, así como sus rangos permisibles tanto para el lote 1 como para el 2.

No obstante, el primer lote obtenido se sometió a ensayo biológico para ver su efectividad como medicamento (tabla 5).

En la tabla 5 se refleja el conteo de melanocitos/mm² y los rangos muestrales comparando el placebo (alcohol sin principio activo) GI, el primer lote experimental GII y la melagenina industrial tomada como referencia GIII.

DISCUSIÓN

De acuerdo con la tabla 1 y tomando en consideración las medias obtenidas de

TABLA 5. Resultados de ensayos biológicos

	Melanocitos/mm ²	Rangos muestrales
GI placebo	30,82	-
GII M-Ind	40,25	-
GIII primer lote	37,34	-
Pb	-	2 533
Primer lote	-	5 062
M-Ind	-	5 954,5

Pb: placebo; GII M-Ind y M-Ind: melagenina industrial tomada como referencia interna.

los 6 experimentos, se llega a 82,19 % de remoción de sólidos y un efecto de disminución de la absorbancia al eliminar la turbidez por el empleo de la placa filtrante cubana que incide de forma favorable en el producto terminado.

Durante el control del proceso al comparar ambos lotes entre sí, se observa similitud en los tiempos de filtración a pesar de que los volúmenes a filtrar son ligera-

mente diferentes. Esto es una medida de la reproducibilidad en el nivel de compactación de la torta de decalite en las placas para cada lote.

De acuerdo con los análisis de control químico se observan resultados similares en los diferentes controles realizados entre ambos lotes.

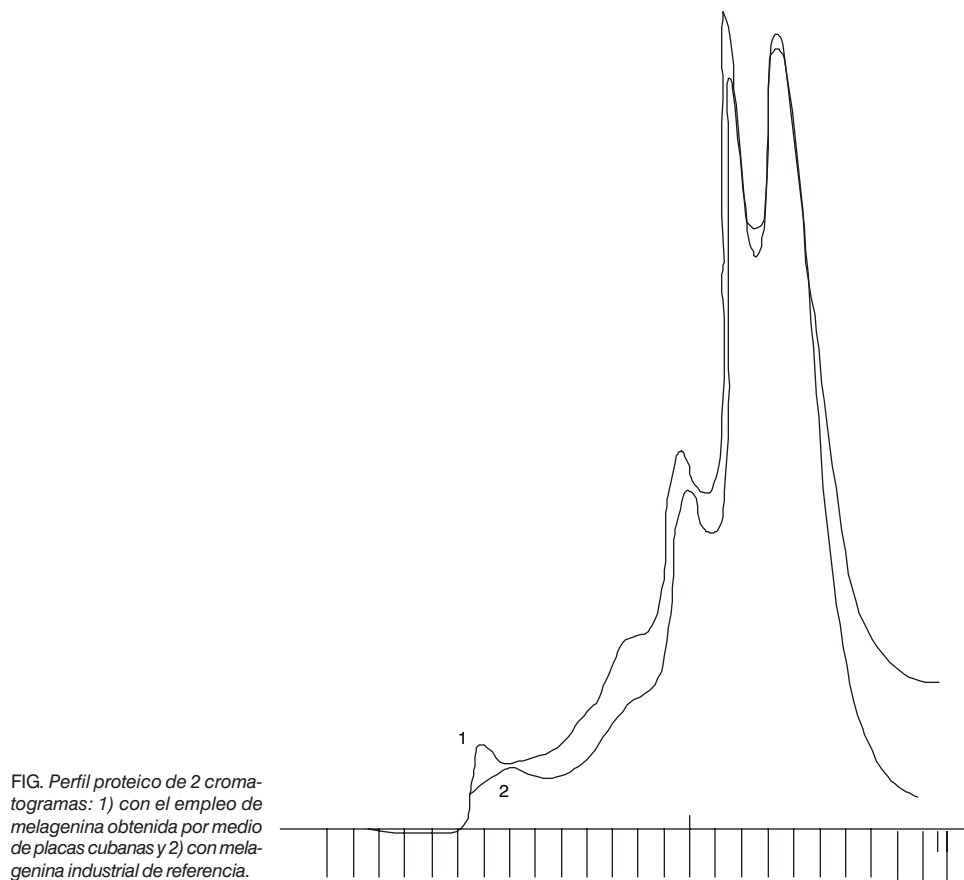
La efectividad como medicamento se comprobó al realizarse el análisis biológico. Según éste no hay diferencias significativas entre este lote y el lote industrial tomado como referencia interna, lo que permite su empleo en el tratamiento del vitiligo.

En los cromatogramas obtenidos del lote industrial tomado como referencia y el primer lote obtenido con el empleo de placas

cubanas (fig.), se observan diferentes fracciones de proteínas que se pueden superponer de un lote a otro. Hay 3 fracciones bien definidas y un hombro que coinciden en ambos lotes. Estas fracciones presentan similares tiempos de retención.

La evaluación realizada en el filtro prensa tomando en consideración el control que se realiza durante el proceso, permitió llegar a la conclusión de que las placas filtrantes cubanas modelo Filtec 00 pueden emplearse con buenos resultados en el proceso de filtración de la melagenina loción.

Se obtuvieron 2 lotes cuyos parámetros de control analítico coinciden con el medicamento obtenido al emplear las placas convencionales de importación.



Se logró realizar un fraccionamiento proteico en uno de los lotes obtenidos con el empleo de las placas filtrantes cubanas y se

comparó con el patrón de referencia industrial interna mediante un sistema de filtración por gel; los resultados obtenidos fueron similares.

SUMMARY

Melagenine lotion is a drug extracted from human placenta. It is identified as a low molecular weight lipoprotein that has proven its efficiency to cure vitiligo. A system of cellulose plates is used during the productive process of obtention of this extract at the station of filtration of the Center of Placental Histotherapy. The present paper is aimed at studying the use and evaluation of plates of national production model Filtec 00 made at the Cuban 9 Union of Research and Production for obtaining the product. To this end, the filtre was evaluated taking into account some operational criteria in addition to drug quality control parameters.

Subject headings: LIPOPROTEINS; PLACENTAL EXTRACTS; DRUG QUALITY; FILTRATION; DRUG INDUSTRY.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Osa JA de la. Desafiando lo incurable. Revelaciones del Dr. Carlos Miyares Cao. Aporte cubano al tratamiento del vitiligo. Madrid:Editorial Sangura;1996:23-4.
2. Clark JM, Fremn WH. Determination α -aminos libres. Experimental Biochemistry 1964;20:563.
3. Boehringer Mannheim Gubh. Diagnostic Watson D. Test combination colesterol. Clin Chem Acta 1960;5:10.
4. The United State Pharmacopeia 23. Tautan: Rand Mc Nallv;1995:1745. Sigarroa A. Biometría y diseño experimental I parte. La Habana:Editorial Pueblo y Educación;1985:29.

Recibido: de mayo de 1999. Aprobado: 4 de junio de 1999.

Lic. *Guillermo Lago Mendoza*. Centro de Histoterapia Placentaria (Planta). Ciudad de La Habana, Cuba.