

Descontaminación del ingrediente farmacéutico activo de *Rhizophora mangle* L. mediante radiaciones ionizantes

Decontamination of active ingredient from *Rhizophora mangle* L. by ionizing radiation

Yanet Rodríguez Perdomo,^I Dulce María Soler,^{II} Héctor Correa Rivero,^{III} Luz María Sánchez Perera,^{IV} Yamilka Riverón Alemán^V

^I Licenciada en Radioquímica. Investigadora Agregada. Dirección de Producciones Biofarmacéuticas. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). Mayabeque, Cuba.

^{II} Doctora en Ciencias. Investigadora Auxiliar. Dirección de Producciones Biofarmacéuticas. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). Mayabeque, Cuba.

^{III} Ingeniero Químico. Máster en Procesos Biotecnológicos. Dirección de Producciones Biofarmacéuticas. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). Mayabeque, Cuba.

^{IV} Doctora en Ciencias. Investigadora Auxiliar. Dirección de Producción y Salud Animal. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). Mayabeque, Cuba

^V Licenciada en Microbiología. Máster en Microbiología Veterinaria. Dirección de Aseguramiento de la Calidad. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). Mayabeque, Cuba.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue determinar la dosis de radiación gamma eficaz para descontaminar el extracto seco de corteza de *Rhizophora mangle* L. (mangle rojo). Se obtuvieron 3 lotes de este ingrediente farmacéutico activo secado en un Spray dryer y se irradiaron en una instalación Gammacell-500 con una tasa de dosis de 6,26 kGy/h, evaluando 3 dosis (3, 5 y 8 kGy). El control del proceso de irradiación se realizó empleando dosímetros de sulfato cérico. Se determinó el límite microbiano y el contenido de taninos de cada lote del ingrediente farmacéutico activo irradiado a las diferentes dosis probadas. A partir de los resultados obtenidos se alcanzó una reducción de 2 ciclos de desarrollo logarítmico de los lotes irradiados a las dosis de 5 y 8 kGy, con respecto a la carga contaminante inicial y la concentración de taninos de los lotes irradiados a diferentes dosis se mantuvo dentro de los límites de

especificación, sin diferir respecto al producto no tratado. Se estableció 5 kGy como dosis de descontaminación del ingrediente farmacéutico activo seco de mangle rojo, de esta manera se logra garantizar un producto conforme para la obtención de nuevos preparados farmacéuticos.

Palabras clave: *Rhizophora mangle* L., mangle rojo, descontaminación, radiaciones gamma, irradiación.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the effective Gamma ray radiation to decontaminate the soft extract from *Rhizophora mangle* L. (red mangrove) bark. Three batches of this active ingredient, dried in a spray dryer and irradiated in a Gammacell-5000 equipment at a dose rate of 6.26 kGy/h, were obtained. Similarly, three doses (3, 5 and 8 kGy) were evaluated. The irradiating process was controlled by means of ceric sulphate dosimeters. The microbial limit and the content of tannins were determined for each batch of the active ingredient irradiated at the various tested doses. On the basis of the final results, there was reduction of two logarithmic development cycles of the irradiated batches at 5 and 8 kGy doses, when compared with the initial polluting load. The tannin concentration of irradiated batches was kept within the specified limits and no differences were found between the treated batches and the untreated product. The decontamination dose for the dried active ingredient from red mangrove was set at 5 kGy. In this way, it is possible to guarantee a suitable product for obtaining new pharmaceutical preparations.

Key words: *Rhizophora mangle* L., red mangrove, decontamination, gamma radiations, irradiation.

INTRODUCCIÓN

Un paso crucial en el proceso de producción de un medicamento es que la materia prima a emplear debe cumplir con los parámetros microbiológicos previamente establecidos. Muchos son los métodos que se emplean para lograr que esta cumpla con las especificaciones de calidad microbiológica como el calor, la filtración esterilizante, el tratamiento por radiaciones ionizantes, entre otros.

Este último método, con gran auge mundial a nivel comercial, constituye un proceso industrial seguro y confiable cuando es aplicado apropiadamente. El proceso de irradiación es un proceso físico, que implica la exposición del producto a radiaciones ionizantes. El propósito de este método es destruir la contaminación microbiológica en aquellos productos o materiales no conformes.^{1,2}

La FDA en 1980 propuso una metodología que regula la irradiación de alimentos para consumo humano y posteriormente la aplicación de las radiaciones ionizantes con fines descontaminantes como alternativa para garantizar la calidad microbiológica de muchas producciones farmacéuticas.³

En Cuba estos servicios están dirigidos a la descontaminación de productos nacionales de gran impacto socio-económico tales como: trofin, spirulina, cartílago de tiburón, noni, acitán, cremas infantiles, champú, ungüentos oftálmicos, medicamentos en tabletas (meprobamato, óvulos vaginales, carbón y pepsina, PV-2 y otros). El desarrollo de estos servicios es respaldado por el control estricto de la dosimetría del proceso de irradiación.^{4,5}

En la Industria Farmacéutica los productos naturales son las fuentes más exitosas y consistentes de los fármacos líderes, por lo que en la actualidad constituyen un área de gran atención para las instituciones y las empresas encargadas de la producción de medicamentos.^{6,7} Según *Del Toro y Stafford*,^{8,9} en nuestro país desde 1991 se inició un Programa de Plantas Medicinales que incluía el uso científico de 60 plantas medicinales más empleadas por nuestra población y su elaboración por la Industria Farmacéutica.

Una de las plantas medicinales estudiadas en Cuba es la especie *Rhizophora mangle* L. (comúnmente conocido por mangle rojo) a la cual se le han demostrado varias propiedades farmacológicas del extracto acuoso de la corteza que incluyen, prevención de la mastitis bovina,¹⁰ la eficacia en la curación de las heridas,¹¹ así como propiedades antimicrobianas,¹² en el tratamiento de las infecciones uterinas en bovinos,¹³ las úlceras gastroduodenales,¹⁴ y recientemente se demostró sus propiedades antiinflamatorias y antioxidantes.¹⁵

Para desarrollar tecnológicamente nuevas formas farmacéuticas de mangle rojo es necesario que el ingrediente farmacéutico activo (IFA) cumpla con los indicadores de calidad establecidos para garantizar las Buenas Prácticas de Fabricación del medicamento ya sea para uso humano o veterinario. Es objetivo del presente trabajo realizar un estudio de descontaminación del IFA de *Rhizophora mangle* L. mediante radiaciones ionizantes.

MÉTODOS

La obtención 3 lotes del IFA identificados como EM01, EM02 y EM03 se realizó a escala de laboratorio en un reactor de acero inoxidable en las siguientes condiciones de operación: volumen efectivo 0,002 m³, relación corteza de mangle/agua 1/4 (25 %), tamaño de partícula de la corteza de mangle rojo 2 mm, velocidad de agitación 200 min⁻¹, área de transferencia de calor 0,103 m², presión de trabajo 101,3 kPa, temperatura de lixiviación 90 °C.

Una vez obtenido el extracto acuoso concentrado, se determinó la concentración de sólidos solubles totales mediante el método gravimétrico y posteriormente se secó utilizando un Minisecador de spray Mini Spray Dryer Buchi B-191 según lo establecido por *Gonzalez y otros*,¹⁶ con una temperatura de entrada del aire de 120 °C y un flujo de entrada de 348 o 5,8 mL/min. Al producto seco se le determinó el índice de fluidez y la humedad residual mediante el método gravimétrico utilizando una balanza infrarroja tipo Sartorius tipo 73-93-A. Posteriormente 3 lotes del IFA seco (preparados en 3 bolsas de polietileno de 25 g cada lote) se irradiaron 3, 5 y 8 kGy, para ello se empleó el irradiador autoblandado Gammacell-500, el cual posee una fuente radioisotópica de Co⁶⁰ (emisora de rayos gamma). La tasa de dosis durante el proceso fue de 6,26 kGy/h y la razón de uniformidad de 1,2. La dosimetría de calibración se efectuó empleando el dosímetro Fricke y el control del proceso de irradiación se realizó utilizando el sistema dosimétrico de sulfato cérico (ASTM-E 1026 Practice for Using the Fricke Reference Standard Dosimetry System. ASTM-E126: Standard Guide for Selection and Application of Dosimetry Systems for Radiation Processing).

Una vez irradiado el producto se verificaron las propiedades organolépticas, el límite microbiano y el contenido de taninos.

Características organolépticas: se evaluó la apariencia física en cuanto a olor, color y textura (homogénea o no homogénea) mediante la utilización de los órganos sensoriales.

Contenido de taninos totales (TT): se realizó mediante una precipitación cuantitativa de los taninos con albúmina sérica y su posterior determinación colorimétrica con cloruro férrico.¹⁷

Límite microbiano: se procedió según lo establecido por la USP 29, para determinar el conteo total de microorganismos viables aerobios por el método de placa vertida.¹⁸

RESULTADOS

La evaluación del contenido de sólidos solubles totales (SST) para los 3 lotes de IFA de mangle rojo, fue superior a los 95 mg/mL (tabla 1). Los extractos secos mostraron que el polvo no fluía a través de la tolva, por lo que no fue posible determinar los indicadores de flujo, mientras que la humedad residual resultó elevada al ser superior al 7 % en los 3 lotes.

Tabla 1. Contenido de SST para los lotes de IFA de mangle rojo

Lote	SST (mg/mL)	Contenido de humedad de IFA seco (%)
EM01	97,5	8
EM02	95,8	8
EM03	99,4	7

La determinación de la carga microbiana antes y después del proceso de irradiación permitió conocer la contaminación microbiana promedio de la producción del IFA seco de mangle rojo. Los resultados de la figura 1 muestran que la inadecuada calidad microbiológica del producto antes de ser irradiado se debió a la presencia de mesófilos aerobios y hongos filamentosos.

En cuanto a las propiedades organolépticas no hubo cambios después de la irradiación; todos los lotes mantuvieron su olor característico, color pardo-rojizo y la homogeneidad en su textura. El contenido de la concentración de taninos para los lotes de IFA se muestra en la figura 2.

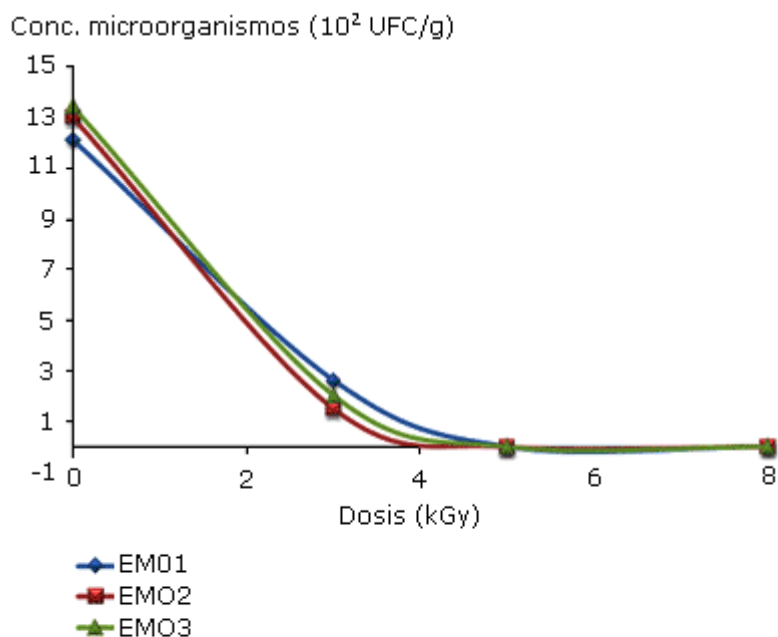


Fig. 1. Relación de la carga microbiana de cada lote con respecto a la dosis aplicada.

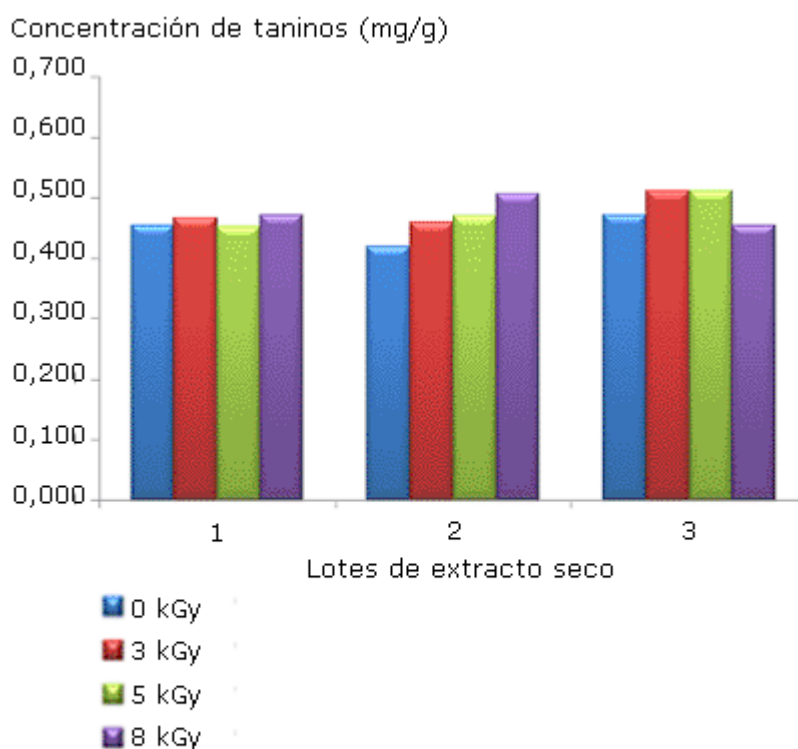


Fig. 2. Relación del contenido de la concentración de taninos para los lotes de IFA con respecto a la dosis aplicada.

La tabla 2 presenta los valores obtenidos en la estimación de la dosis recibida por cada lote a través de la colocación de 3 dosímetros para cada bolsa.

Tabla 2. Valores dosimétricos obtenidos en la irradiación del IFA seco de mangle rojo

Lote	Dosis esperada (kGy)	Dosis estimada (kGy)
EM01	3	3,10 ± 0,056
	5	5,19 ± 0,191
	8	7,93 ± 0,275
EM02	3	3,20 ± 0,206
	5	5,09 ± 0,183
	8	8,16 ± 0,168
EM03	3	3,05 ± 0,132
	5	5,39 ± 0,291
	8	8,05 ± 0,063

DISCUSIÓN

El radiotratamiento mostró su efectividad en el control de la contaminación microbiana, y logró una disminución de esta con el incremento de la dosis aplicada; a partir de la dosis de 5 kGy se alcanzó la reducción de 2 ciclos de desarrollo logarítmico con respecto a la carga contaminante inicial, de manera que se eliminó la presencia de especies patógenas, y se encontró una carga cuantitativa muy por debajo del límite permisible. La contaminación microbiana encontrada en el IFA de mangle rojo se debió a la inadecuada calidad higiénica de la materia prima, el cual dado su origen contiene una microflora contaminante, la que no pudo ser eliminada en los procesos de extracción y secado del IFA.

Se informan numerosos extractos naturales utilizados como materia prima en la Industria Farmacéutica cubana donde este método ha sido efectivo en la goma arábiga, proveniente del árbol *Acacia senegal*, *C. officinalis*, *P. incarta* y *M. recuttia* y *S. platensis*. A escala comercial se han aceptado por los órganos reguladores de varios países, numerosos medicamentos tratados por radiaciones gamma para lograr la calidad higiénica de antibióticos, productos botánicos, colirios, pomadas oftálmicas, neomícina, polimixina, bacitracina, vendajes medicinales con sulfato de framicitina, pomada oftálmica de sulfato de atropina, entre otros.^{19,20}

En cuanto a la estabilidad físico-química el producto tratado no evidenció diferencias con respecto al no tratado ya que se encuentran dentro del intervalo de aceptación (mayores de 0,45 mg/g); estas variaciones en la concentración de taninos para cada dosis aplicada en un mismo lote de IFA solo están determinadas por la exactitud del método analítico aplicado, por lo que existe estabilidad química en las dosis empleadas. Estos resultados coinciden con lo informado por *Coto* y otros,²¹ quienes demuestran que a partir de la dosis de 10 kGy existen cambios estructurales y conformacionales en los taninos de la especie *Pinus caribaea* al ser irradiada.

Los resultados del estudio de dosis mostraron la factibilidad del empleo de la tecnología para fines descontaminantes; a partir de la dosis de 5 kGy se alcanza una buena calidad higienico-sanitaria en el producto sin afectar sus características fisicoquímicas. La base de esta industria es la medición y control de la energía

recibida en el proceso, este control provee a los operadores de la instalación, a los fabricantes del producto y además a las autoridades reguladoras pertinentes de la información sobre la calidad del proceso efectuado.

En conclusión, mediante la aplicación de la tecnología de irradiación se estableció como dosis de descontaminación 5 kGy para el IFA seco de mangle rojo, de esta manera se logra garantizar un producto conforme para la obtención de nuevos preparados farmacéuticos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Garcia R, Howard B, LaRue R, Parton G, Walker J. Strategies for Gamma Sterilization of Pharmaceuticals, Pharmaceutical & Medical Packaging News, May 2004. [cited 2011 Feb 10]. Available from: <http://www.devicelink.com/pmpn/archive/04/05/004.html>
2. Howard B. Gamma Irradiation in the Pharmaceutical Manufacturing Environment. Pharmaceut Technol. 2010; 34:s40-s43.
3. Geoffrey PJ. Radiation Sterilization of Parenterals, Pharmaceutical Technology. [cited 2011 Feb 10]. Available from: <http://pharmtech.findpharma.com/pharmtech/Aseptic+processing/Radiation-Sterilization-of-Parenterals/ArticleStandard/Article/detail /423948>
4. Guerra M, Prieto E, Melo JC, Pomares Z. Radiotratamiento de mafenida 10 % crema. Rev Cubana Farm 1996; 30(2). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75151996000200001&lng=es
5. Rodríguez Y. Procesos por irradiación. Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos54/procesos-por-irradiacion/procesos-por-irradiacion.shtml>
6. Feria I, López M, Serrano H, Orozco S, Lozaya H. Aplicación de la biología molecular al control de calidad de los fitomedicamentos. Rev Mex Ciencias Farm. 2007; 38(1): 49-57.
7. Harvey A.L. El valor de los productos naturales en el descubrimiento de nuevos medicamentos. Rev Salud Anim. 2009; 31(1): 8-12.
8. Del Toro G, Trapero Y. La Medicina Tradicional y Natural en el Sistema de Salud Pública Cubano. BLACPMA [Internet] 2007 [citado 18 Nov 2010]; 6(3): 48-51. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/856/85660302.pdf>
9. Stafford L. The Rich History, Current State, and Possible Future of Natural and Traditional Medicine in Cuba. *HerbalGram*. 2010; 85: 40-9.
10. Armenteros M, Ginorio M. Determination of the minimum inhibitory concentration of *Rhizophora mangle* L. (red mangrove) against different microorganism., Rev Salud Anim. 1999; 21(2): 135.

11. Fernández O, Capdevila JZ, Dalla G, Melchor G. Efficacy of *Rhizophora mangle* L. aqueous bark extract in the healing of open surgical wounds. Fitoterapia. 2002;73(7/8):564-8.
12. Melchor G, Armenteros M, Fernández O, Linares E, Fragas I. Antibacterial activity of *Rhizophora mangle* bark. Fitoterapia. 2001;72:689-91.
13. Agüero F. Evaluación de un producto natural, a base de *Rhizophora mangle* L. en la terapia de la endometritis bovina. [Tesis doctoral]. La Habana: Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, Universidad Agraria de La Habana; 2004.
14. Sánchez LM, Varcacel L, Escobar A, Noa M. Polyphenol and phytosterols Composition in an antibacterial extract from *Rhizophora mangle* L. 's bark. J Herbal Pharmacoth. 2006;6:5.
15. Sánchez J. Propiedades antioxidantes del extracto acuoso de *Rhizophora mangle* L. y de su fracción polifenólica mayoritaria evaluadas en sistemas *in vitro* e *in vivo*. [Tesis doctoral]. La Habana: Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, Universidad Agraria de La Habana; 2008.
16. González, A, López O.D, Alfonso A. Calificación de un minisecador de spray Mini Spray Dryer Buchi B-191. LabCiencia con noticias técnicas del laboratorio. 2008;3:24-26.
17. Travieso MC, Hechevarria OL, Betancourt A, Frontela M, Miranda I. Validación del método de determinación de taninos totales en productos naturales vegetales. Rev Protección Veg. 1998;13(2):189-94.
18. United States Pharmacopoeial Convention. USP XXIX. Microbial Limit Tests. United States Pharmacopoeial Convention. 29 ed. Rockville: Mack Printing; 2006. p. 2503-8.
19. Phyllips GO. La tecnología de las radiaciones en la cirugía y la industria farmacéutica: Reseña de sus aplicaciones. Boletín del OIEA. 1994;1:19-23.
20. Rodriguez M, Lopez M, Guerra M, Lastra H, Prieto E, Padron E. Gamma radiodecontamination of natural products uses in Cuban pharmaceutical industry Proceedings of First Workshop on Nuclear and Related Techniques in Industry. Havana City, 1997. p. 68-9.
21. Coto I, Barroso S, Martínez F. Study of the Gamma Radiation Effect onTannins Samples, Proceedings of the XIII Workshop on Nuclear Physics and VII International Symposium on Nuclear and Related Techniques WONP-NURT'2011, February 7-11, Havana City, 2011.

Recibido: 25 de mayo de 2011.

Aprobado: 30 de junio de 2011.

Lic. Yanet Rodríguez Perdomo. Dirección de Producciones Biofarmacéuticas. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA).). Mayabeque, Cuba. Correo electrónico: yanet@censa.edu.cu
