

Centro Nacional de Termalismo

NUEVA COMPOSICIÓN DE ORIGEN NATURAL CON APLICACIÓN EN ULTRASONIDO TERAPÉUTICO

Lic. Maritza Pérez Loyola,¹ Lic. Felicia Rebeca Segarte Narío,¹ Dra. Odalys Ponce de León,²

Ing. Fidel Caraballo Hernández³

Resumen

Se presentó una nueva composición farmacéutica para aplicación como vehículo por sus propiedades farmacológicas en ultrasonido terapéutico, caracterizada por contener un extracto acuoso de algas *Euchema cottonii* y sales obtenidas por evaporación de las aguas madres altamente mineralizadas que acompañan los fangos mineromedicinales. Los efectos beneficiosos del mucílago obtenido de las algas y las sales se combinan y actúan sinérgicamente.

Descriptores DeCS: EXTRACTOS VEGETALES/uso terapéutico; ALGAS MARINAS; QUIMICA FARMACEUTICA; TERAPIA POR ULTRASONIDO; FANGOTERAPIA; COMPOSICION DE MEDICAMENTOS.

Summary

Authors present a new pharmaceutical composition as vehicle by its pharmacological properties in therapeutic ultrasound (US), characterized by containing an aqueous extract of algae (*Euchema cottonii*) and salts, obtained through evaporation of highly mineralized mother waters, accompanying the miner medicinal muds. Beneficial effects of mucilage, obtained from algae and salts, are combined and thus, have an synergistic action.

Subject headings: PLANT EXTRACTS/therapeutic use; SEAWEED; CHEMISTRY, PHARMACEUTICAL; ULTRASONIC THERAPY; MUD THERAPY; DRUG COMPOUNDING.

Cerca de la mitad de los medicamentos utilizados en la actualidad son de origen natural y aunque los organismos marinos constituyen una fuente potencial de nuevos medicamentos, más del 80 % se encuentran aún inexplorados.

Muchos extractos de diferentes especies de algas marinas obtenidas por decocción, maceración y otros procedimientos de extracción en solventes orgánicos poco polares, agua, y solventes miscibles en agua presentan gran importancia a causa de sus propiedades gelificantes, cicatrizantes, antirradicales libres, antioxidantes, antiinflamatorias, antibacterianas, antivirales, aclarantes de la piel y fotoprotectoras, entre otras.¹⁻³

Se ha demostrado que en los extractos de muchas especies de algas marinas los responsables del principio activo son producto del metabolismo secundario de la planta.⁴⁻⁸ Se

han reportado también compuestos bioactivos de alto peso molecular como algunos polisacáridos y proteínas.^{1, 3, 9}

El ultrasonido terapéutico es una forma de vibración acústica de alta frecuencia que condiciona efectos terapéuticos de tipo analgésico, antiinflamatorio y normalizador condicionados estos por los efectos mecánicos (micromasaje celular y térmicos (vasodilatación y el intercambio iónico)^{10,11}

Se puede aplicar en forma de fonoforesis cuando la sustancia utilizada como vehículo presenta efectos terapéuticos propios o simplemente como ultrasonido y en este caso la sustancia utilizada solo va a garantizar un acoplamiento óptimo entre el área de radiación efectiva del cabezal y la superficie corporal que se va a tratar, evitando la reflexión de las ondas en el límite entre 2 superficies de impedancia acústica diferente^{10,11}.

¹ Licenciada en Bioquímica.

² Especialista en Medicina Física y Rehabilitación.

³ Ingeniero Eléctrico.

En la historia de los productos naturales marinos, el uso de estos compuestos como fármacos dirigidos al área de aplicación en ultrasonido terapéutico y diagnóstico no se ha reportado en información de patentes, ni en literatura científica internacional. Es de señalar que por vez primera en nuestro país se realiza un trabajo de esta naturaleza.

Nos propusimos investigar, desarrollar y comercializar un gel natural de ultrasonido terapéutico que pudiera sustituir al gel convencional, de importación deprimida en el ámbito nacional por las restricciones comerciales del mercado externo a que está sometido el país.

Como fuente de principios activos se combinó el mucílago obtenido de un alga *Euchema cottonii* con las sales obtenidas por evaporación de las aguas madres cloruradas, sódicas, magnésicas, cálcicas, sulfatadas que acompañan los fangos mineromedicinales de la salina "10 de Abril".

El objetivo del presente trabajo fue la obtención de un gel de ultrasonido terapéutico, su caracterización química, estudio microbiológico, estudio de toxicidad, preclínico y como vehículo en la técnica electromédica de aplicación de ultrasonido.

Métodos

Las aguas madres cloruradas sódicas, magnésicas cálcicas sulfhídricas, que acompañan los fangos mineromedicinales fueron extraídas por personal especializado procedente de la salina "10 de Abril" ubicada en el municipio Corralillo, provincia de Villa Clara, Cuba.

Las algas *Euchema cottonii* fueron colectadas por personal de buceo entrenado al efecto procedente del Instituto de Oceanología en el mes de diciembre de 1998, en un área de cultivo ubicada en la costa norte de Santa Fe municipio Playa. Ciudad de La Habana, Cuba. Una vez colectadas se lavaron y secaron al sol, durante 9 d; posteriormente se sometieron a un molinado, donde se empleó un molino de cuchillas con tamiz 2,5. Se hincharon en agua tratada por 24 h.

La extracción del mucílago se llevó a cabo en un reactor de laboratorio LRA-1000 con base metálica encamisada para atemperar hasta 150°C con conexión a vacío (30 mbar) a presión 6 bar, agitador de hélice ó viscosímetro IKAVISCR y

homogenizador ULTRA-TURRAX y sonda de temperatura IKA-PT 100.5. Agitando continuamente se obtuvieron 12 mucílagos que fueron extraídos a diferentes tiempos (40-180 min) y distintas temperaturas (70-90 °C). En un filtro prensa se filtraron los mucílagos obtenidos y por recirculación se incorporaron nuevamente al reactor LRA-1000, donde se adicionaron las sales obtenidas por evaporación de las aguas madres de los fangos mineromedicinales y los preservos adecuados. Por último, se envasó el gel en frasco aplicador PVC de alta densidad.

A los 12 extractos preparados a diferentes tiempos y diferentes temperaturas se les determinó el contenido de carbohidratos por el método de fenol-sulfúrico¹² y la concentración de proteínas según el método de Lowry, 1951¹³. Se determinó pH y viscosidad intrínseca; se calculó el rendimiento, actividad óptica y fortaleza del gel.

A los geles obtenidos se les determinó conteo total de hongos y bacterias, determinación cuantitativa de microorganismos aeróbicos mesófilos, coliformes, *St. aureus*, hongos filamentosos y levaduras, *Pseudomonas aeruginosa* según las normas cubanas^{14,15}

En animales de experimentación se le realizó al gel ensayos de toxicidad en cangrejos: según reportan Galetis y Norton, 1990¹⁶ y toxicidad en peces según el test de Mebs modificado por García-Alonso y colaboradores¹⁷

Al gel destinado a ultrasonido se le determinó irritabilidad dérmica y oftálmica se realizó en una especie no roedora (conejo), empleando 3 animales con un peso no menor de 2 kg; la perteneciente a la línea F1, procedentes de CENPALAB y con certificado de calidad. El ensayo duró 8 d (5 de aclimatación y 3 de prueba). Las técnicas utilizadas se encuentran descritas en los procedimientos de laboratorio así como en las guías de la OECD¹⁵ (1999). La vía de administración fue tópica, y se colocó la sustancia sin diluir, directamente en la piel de los animales. La duración de la prueba fue de 72 h.

Se determinó la conductividad del gel y los daños que pudiera ocasionar al cabezal de un equipo de ultrasonido terapéutico.

Resultados

Los resultados de la estandarización y caracterización del mucílago del alga *Euchema cottonii* se muestran en la tabla.

TABLA. Resultados de la estandarización y caracterización de los geles de ultrasonido

Extracto	Temperatura de extracción (°C)	Tiempo de extracción (min.)	Gelificación (g/cm ²)	Carbohidrato (%)	Proteína (%)	Rendimiento (%)	Solubilidad (%)	Viscosidad intrínseca (Ncos)	Actividad óptica (α)	pH
1	70	40	50	58	0,033	19	95,08	18	63	7
2	70	70	60	55	0,025	30	96	24	63	6,8
3	70	90	100	55	0,019	23	96	21	65	6,9
4	70	180	100	53	0,019	23	97	18	65	6,9
5	85	40	100	64	0,034	30	97	24	63	6,7
6	85	70	100	62	0,031	32	97	24	63	6,8
7	85	90	100	61	0,027	32	97	23	66	6,7
8	85	180	200	59,5	0,026	33	97,4	18	63	6,7
9	90	40	100	69	0,022	38	97	26	63	6,8
10	90	70	100	67	0,013	39	98	27	63	6,4
11	90	90	200	67	0,012	39	97,8	27	63	6,8
12	90	180	200	62	0,011	38	97,8	25	63	6,8

Los ensayos de toxicidad en cangrejos y peces en los 12 extractos obtenidos a diferentes tiempos y temperaturas no resultaron tóxicos. No se observaron síntomas neurológicos o de conducta inadecuada.

Los ensayos de irritabilidad oftálmica producen irritación ligera en la conjuntiva en el modelo ensayado, por lo que se clasifica como no irritante.

En los ensayos de irritabilidad dérmica no se encontraron alteraciones en la piel de los animales analizados según el medidor de la escala de *Draize*, así como no se observaron otros signos en los animales sometidos al ensayo.

En el análisis microbiológico de los extractos obtenidos la determinación cuantitativa de microorganismos aerobios mesófilos, coliformes, hongos filamentosos y levaduras resultó < 10 UFC, mientras que la de *St. aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, fue negativa.

Los estudios realizados en electromedicina mostraron que la adición del gel de algas a un cabezal con una película de plata no causa variaciones en la uniformidad ni deterioro en éste. Por otra parte se midió la conductividad, que resultó ser < 1M ohm, lo que se traduce en una buena conductividad de acuerdo con los objetivos trazados.

Discusión

Varias especies de macroalgas marinas se cultivan con interés comercial, debido a sus altos contenidos de polisacáridos del tipo agar, ácido alginico y carragenina. En particular el género *Euchema* se considera internacionalmente, la fuente comercial más apropiada para la obtención de carragenina³ de aquí, que su cultivo se encuentra extendido ampliamente en varios países del mundo entre ellos Cuba.

Las carrageninas constituyen polisacáridos de alto peso molecular en particular del tipo galactano sulfatado, que a diferencia de los agares, tienen un alto contenido de estersulfato. Se conocen 5 tipos de carragenina, que se diferencian entre sí en su composición química y por consiguiente en sus propiedades físicas (viscosidad, gelificación y otras). Dentro de las carrageninas, la Kappa (k) es considerada en la industria como gelatina vegetal por sus propiedades de formar geles rígidos y fuertes.

Nuestro grupo ha desarrollado un procedimiento para la obtención de geles rígidos, sin necesidad de separar la kappa carragenina (que es un proceso costoso), de las sales y otros elementos que forman parte del alga de cultivo, los cuales están presentes de manera natural en ella.

Las determinaciones analíticas realizadas (tabla) evidencian que existen diferencias cuantitativas y cualitativas entre los diferentes extractos, por la influencia del tiempo y la temperatura de extracción sobre el rendimiento y las propiedades químico-físicas del polímero (carragenina).

En general, la concentración de proteínas en los extractos fue muy baja, inferior a $\pm 2\%$ y los porcentajes de

carbohidratos fueron altos en correspondencia con lo reportado en la literatura;³ los menores porcentajes de proteínas se encuentran a más altas temperaturas y los más largos tiempos de extracción, puesto que las proteínas se desnaturalizan.

La solubilidad en todos los casos es superior al 95 % y tiende a aumentar ligeramente con el tiempo de extracción y la temperatura, ya que el componente químico fundamental del alga *Euchema* es la carragenina y ésta desempeña un papel como polisacárido de la estructura de la pared celular en la planta, al ocurrir la lisis de la pared celular por la decocción el agua penetra al interior de las células y el polisacárido tiene un comportamiento hidrodinámico en las soluciones acuosas que permite se forme la doble hélice característica de la kappa carragenina. Estos resultados son similares a los encontrados por *D.M Jones*. Adv. Carbohydr chem, 19,219 (1967).⁹

Los resultados obtenidos indican que existe una relación directa entre el porcentaje de carbohidrato, la formación de doble hélice, la viscosidad intrínseca y la fortaleza del gel. A mayores temperaturas se obtuvieron los mayores porcentajes de carbohidratos, mayor fortaleza del gel, mayor viscosidad y mayor rendimiento que caracterizan al polisacárido kappa carragenina. El pH se mantuvo entre 6 y 7, ya que no se realizó hidrólisis ácida o básica.

Los productos destinados para la piel deben ser ensayados antes de proceder a su uso para prevenir los posibles riesgos que puedan correr al entrar en contacto con ella, por lo que se hace necesario efectuar los ensayos pertinentes para demostrar el grado de toxicidad de estos sobre la mencionada estructura. Por esta razón se utilizaron animales de experimentación antes del uso en pacientes para cumplir los principios éticos de no afectar la salud de las personas que lo utilicen.

El gel destinado a ultrasonido a partir de *Euchema cottonii* y las sales mineromedicinales no resultó tóxico ni en peces ni en cangrejos, ni en especies no roedoras (conejos). No se observaron alteraciones de tipo eritematoso, edematoso, ni escaras. Tampoco se observaron alteraciones neurológicas en los animales de experimentación, lo que se corresponde con lo reportado en la literatura internacional.³ La kappa carragenina farmacológicamente no causa letalidad, además el consumo de esta planta fue aprobado por el Instituto de Higiene y Epidemiología del MINSAP en Cuba, para ser utilizada con fines alimentarios, por no contener niveles inadecuados de metales pesados y otros elementos nocivos a la salud humana.

Teniendo en cuenta las propiedades farmacológicas, terapéuticas y los mecanismos de acción de las sales sulfurosas, cloruradas, magnésicas, sódicas reportadas en la literatura,¹⁸ en las enfermedades del sistema osteomioarticular, además de los oligoelementos presentes en las algas de manera natural³ justifican que pueda ser utilizada en ultrasonido terapéutico .

Referencias bibliográficas

1. Beard J, Verbest F. The use of marine algae for therapeutic purposes. Chemical Abstracts 1990;113:103243n.
2. Halstead BW. Procurement of crude marine pharmaceutical products International Biotoxicological center. 1978 World life Research Institute California 11.
3. Rideout Ch, Bernabe M. Method for extracting semirefined Carragenan from seaweed Madrid. Patente 5801240. 1998. Madrid España.
4. Baker J, Murphy V. Marine product: Compounds from marine organisms. Chemical Abstracts 1981;(2):240.
5. Faulkner DJ, Fenical WH. Marine natural products Chemistry, New York: Plenum Press 1977:443.
6. Fenical W. Molecular aspects of halogen based biosynthesis of marine natural products. En: Swain T, Waller GR (eds). Recent advances in phytochemistry. Topics in the biochemistry of natural products. New York: Plenum Press, 1979;vol 13:219-39.
7. Fenical, W. Natural product chemistry in the marine environment. Science 1982;215:923.
8. Fenical W. New pharmaceutical from marine organisms. TIBTECH. 1997;15:339-41.
9. Kaeffer B, Bernard C, Lahaye M, Blottiere HM, Cherbut C. Biological properties of ulvan, a new source of green seaweed sulfated polysaccharides, on cultured normal and cancerous colonic epithelial cell. Planta Med 1999;65:527-31.
10. Knasen M. Medicina física y rehabilitación. 4ta. edición. Frederic J, Koltke MD, Justos F, Lehmann MD, Barbara J de Lateur. Diatermia y terapéutica superficial con calor, laser y frío. 1998; 295-380.
11. Boada JJ. Manual práctico electroterapia, Eunibor. "Ultrasonido en medicina Física". 1982;239-61.
12. Dubois M, Gills KA, Hamilton JK, Rebert PA, Smith F. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. Anal Chem 1956;28:350-6.
13. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem 1951;193: 265-275.
14. Normas cubanas 38-02-14:89.
15. OECD. Organización para la cooperación y el desarrollo económico (OECD). Guidelines for testing of Chemicals 1987;405.
16. Galetti P, Norton RS. Biochemical and Pharmacological studies of the mechanism of action of Tenebrosyn C, a cardiac stimulatory and haemolytic protein from the sea anemone *Actinia Tenebrosa*. Toxicon 1990;28(6):695-706.
17. García-Alonso I, Aneiros A, Acosta K, Llanios M, Díaz M, Concepción AR. Biological activity of secretions and extracts of gorgonians from cuban waters. J Nat Toxin 1993;2(1):21-4.
18. Valenzuela M, Castro A, San Martín J. Curas balnearias y climáticas. Talasoterapia y Helioterapia. Ed. Madrid: Universidad Complutense; 1994.

Recibido: 18 de agosto del 2000. Aprobado: 9 de febrero del 2000.
Lic. *Maritza Pérez Loyola*. Centro Nacional de Termalismo. Avenida 243 No. 19815, municipio Boyeros. Ciudad de La Habana, Cuba. CP 19500.