

TAMIZAJE FITOQUÍMICO Y EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA DEL PROPÓLEOS ROJO PROCEDENTE DE LA REGIÓN NORTE DE VILLA CLARA Y SU COMERCIALIZACIÓN.

MSc.Tania Betancourt Purón.; Dr.C Remigio Cortés Rodríguez.; Dr.C Antonio Pérez Donato; Dr.C Daniel Agramante Peñalver.,Tec. Humberto Gil Sosa.

Email:taniab@uclv.edu.cu

Introducción

El propóleo es un compuesto natural que el hombre ha empleado desde hace miles de años en la prevención y el tratamiento de muchas enfermedades, así como para embellecer diferentes partes de la piel y conservar algunos alimentos.

En Cuba, en la década de los noventa se priorizó por los órganos centrales del estado el uso y empleo de los productos naturales en la terapéutica y dentro de estos los derivados apícolas, entre los cuales el propóleo jugó un rol fundamental en la elaboración de diferentes formulados y hasta la fecha sigue formando parte del arsenal terapéutico en nuestro país. (Guía Terapéutica Dispensarial. 1992)

Esta coyuntura favoreció que dentro de las políticas científicas de los centros de investigación del país se prioriza la evaluación de estos compuestos, ya que los mismos no siempre se comportan de la misma forma en lo referente a la toxicidad y la efectividad. Dentro de los centros que asumieron esta tarea se encuentra el Centro de Biotecnología Química (CBQ) y el Instituto de Biotecnología de Las Plantas (IBP), de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas (UCLV).

La composición fitoquímica y estudios toxicológicos del propóleo, resultan indicadores de gran importancia a determinar para las materias primas que se destinen a la producción de nutraceuticos, cosméticos, etc. Además es conocida la amplia variabilidad de sus propiedades, atendiendo a su procedencia geográfica. (Cueto D J, *et al.*1990) En el caso de Cuba en su gran mayoría han sido estudiados estos aspectos, no siendo así el caso del Propóleo Rojo procedente de la región costera del centro norte del país (Caibarién).

Objetivo General

Fundamentar la importancia de un estudio fitoquímico y algunos aspectos de la toxicidad de los propóleos obtenidos en la zona costera del norte de Villa Clara para su comercialización.

Objetivos Especificos.

- Efectuar un tamizaje fitoquímico del propóleo procedente de la zona costera del norte de Villa Clara.
- Determinar la Toxicidad aguda de los extractos hidroalcohólicos del propóleo procedente de la zona costera del norte de Villa Clara.
- Determinar el efecto irritante primario en piel de los extractos hidroalcohólicos del propóleo procedente de la zona costera del norte de Villa Clara.
- Determinar el efecto irritante primario en ojo de los extractos hidroalcohólicos del propóleo procedente de la zona costera del norte de Villa Clara.
- Comercializar estos propóleos si las determinaciones dan los resultados esperados.

Materiales y Métodos.

La parte experimental constó de dos etapas; la primera etapa de este trabajo comprende los estudios de Tamizaje Fitoquímico, donde se procedió a determinar los metabolitos presentes en los extractos del propóleos rojo de Caibarién y en la segunda etapa se procedió hacer un estudio de toxicidad.

Tamizaje fitoquímico.

Para realizar la determinación fitoquímica del propóleos se utilizó la extracción con solventes de diferente polaridad (alcohol, éter etílico y agua) con la finalidad de lograr el mayor agotamiento de la sustancia y ensayar en cada extracto los metabolitos que de acuerdo a su solubilidad puedan ser extraídos en estos solventes.

Toxicidad aguda por vía oral.

En el estudio de toxicidad se realizó según lo descrito en los protocolos aceptados y validados internacionalmente en el caso en cuestión.

Se aplicó el Método de las Clases de Toxicidad, empleando ratones de línea OF1, hembras y machos, previo ayuno de 12 h. Los animales fueron pesados antes de la aplicación del producto, y se realizó la administración por vía oral, en el volumen máximo permisible para la especie.

Irritabilidad dérmica primaria.

Se utilizaron 6 conejos albinos de la raza Nueva Zelanda de ambos sexos, con una masa corporal entre 2 y 2.5 kg, procedentes del CENPALAB.

El día antes de realizarse el experimento se eliminó el pelo de los conejos en la región media dorsal con tijera curva, a las 24 horas se seleccionaron los conejos con superficie cutánea sana, esto se hace con el objetivo de que si existe algún daño no influya en los resultados. El área depilada se dividió en 4 partes, dos de ellas sirvieron de control y a las demás se les aplicó el principio activo en estudio, el volumen aplicado fue de 0.5 ml. Luego se cubrió el área con gasa y se aseguró el parche con cinta adhesiva. Transcurridas 4 horas se retira el parche, el sitio de la piel donde se aplicó la sustancia se examina y se evalúan por separado eritema y edema según la escala de Draize), las observaciones se realizan a 1, 24, 48 y 72 horas después de la aplicación.

Irritabilidad oftálmica primaria.

Se utilizaron conejos albinos de la raza Nueva Zelanda de ambos sexos.

El producto se aplicó en el fondo del saco conjuntival, posteriormente se unieron los párpados durante 30 segundos, con el fin de garantizar la distribución uniforme de la sustancia, no procediéndose al lavado posterior del órgano. El volumen administrado fue 0.1 ml según plantea la técnica aplicada (OECD, 1997). El otro ojo del animal se reservó como control. La lectura se realiza 1, 24, 48 y 72 horas después de la aplicación y la valoración del daño del ojo se efectúa por una escala de puntos.

Resultados y Discusión.

En el Tamizaje Fitoquímico la mayor cantidad de metabolitos se detectó en la extracción etanólica y los metabolitos presentes fueron: flavonoides, compuestos fenólicos y/o taninos, coumarinas, resinas, lípidos y/o aceites esenciales, principios amargos y en mayor abundancia se determinaron, triterpenos y/o esteroides como apreciamos en la siguiente tabla.

Fase	Metabolito	Resultados
Alcohólica	alcaloides	nr
	coumarinas	+
	quinonas	-
	triterpenos y/o esteroides	+++
	resinas	++
	carbohidratos reductores	nr
	saponinas	-
	fenoles y/o taninos	+
	aminoácidos libres(aminas)	-
	flavonoides	++
glicósidos cardiotónicos	nr	
Etérea	alcaloides	nr
	coumarinas	-
	triterpenos y/o esteroides	+
	ácidos grasos	-
	(lípidos y/o aceites esenciales)	++
Acuoso	saponinas	-
	flavonoides	-
	fenoles y/o taninos	-
	Principios amargos	+
	murcílago	-

+ Moderada , ++ Abundante , +++ Muy abundante , nr No realizado

METABOLITOS	ACTIVIDAD BIOLÓGICA
FLAVONOIDES	antibacteriana, antiparasitaria, antiviral antimicrobiana, antimicótica, antiinflamatoria cicatrizante, antioxidante
COUMARINAS	fotosensibilizantes, hipercolesterolémicas esasmolíticas y anticoagulante
ACEITES ESENCIALES	antiséptico, desinfectante y antiparasitario
FENOLES Y/O TANINOS	astringentes, antioxidante. vasoconstrictoras
TRITERPENOS Y/O ESTEROIDES	antimicóticos y anestésicas .

Los metabolitos encontrado en el propóleos rojo estudiado, poseen gran actividad biológica como se mostró en tabla anterior.

Resultados del estudio de toxicidad aguda por vía oral.

Mortalidad en los animales en el estudio de
TOXICIDAD AGUDA POR VÍA ORAL.

Grupo	No de animales	Sexo	nivel de dosis mg/Kg	Mortalidad
1	3	H	2000	0
2	3	M	2000	0
3	3	H	5000	0
4	3	M	5000	0
5	3	H	--	0
6	3	M	--	0

Considerando que a dosis de hasta 5000 mg/kg (la más alta administrada) no hubo mortalidad y teniendo en cuenta además, el seguimiento clínico, la ganancia de peso corporal y el análisis anatomopatológico macroscópico realizado; el compuesto es no clasificado según lo establecido internacionalmente por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD).

Resultados de irritabilidad dérmica en conejos (según Draize y la OECD)

No. del animal	Variable en estudio	Tiempo (horas)				Total
		1	24	48	72	
1	Edema	0	0	0	0	0
	Eritema	1	0	0	0	1
2	Edema	0	0	0	0	0
	Eritema	0	0	0	0	0
3	Edema	0	0	0	0	0
	Eritema	0	0	0	0	0
Total						1

Evaluación IIP = 0.081 No Irritante

El cálculo del Índice de Irritabilidad Primaria en Piel (IIP_P), dio un valor de 0.081 para los grupos tratados y 0 para el control, lo que permite clasificar el producto como no

irritante dérmico, siguiendo como criterio de clasificación el elaborado por Draize que asume como no irritante a aquellas sustancias con IIP_P menores de 2.0,

Resultados de la irritabilidad oftálmica en conejos (según Draize).

Animales	Estructuras del ojo	A la hora	24 horas	48 horas	72 horas	Suma
	córnea	0	0	0	0	0
1	conjuntiva	4	2	0	0	6
	iris	5	0	0	0	5
	córnea	0	0	0	0	0
2	conjuntiva	2	0	0	0	2
	iris	0	0	0	0	0
	córnea	0	0	0	0	0
3	conjuntiva	6	8	4	0	18
	iris	5	0	0	0	5
Suma total						36
IIP						3

Evaluación IIP = 3 No Irritante

La suma de los valores de las diferentes lecturas efectuadas en cornea, iris y conjuntiva permitió calcular Índice de Irritabilidad Primaria Oftálmica, el cual fue de un valor de 3, lo cual clasifica al producto como *no irritante* ocular, según lo establecido por la OECD, 1997 y según el Anteproyecto del método cubano (Gastón, 1988).

Comercialización de Extractos de Propóleos

- Desde el segundo trimestre del 2006 se comenzó a comercializar a través de MERCADU Extracto Blando de Propóleos y Tintura de Propóleos a Suchel Camacho.

Aplicación de los extractos de Propóleos en la industria de Cosméticos.

Estos extractos de propóleos fueron empleados con éxito en la formulación de:

- crema con propóleos para alrededor de los ojos.
- crema regeneradora con propóleos.
- tónico facial con propóleos.

Actualmente se comercializan estos productos por la industria de cosmético Suchel Camacho S.A.



Conclusiones.

1. En el Tamizaje fitoquímico efectuado al propóleo rojo de Caibarién, se encontraron como metabolitos fundamentales los flavonoides, coumarinas, triterpenos y/o esteroides, fenoles y/o taninos, aceites esenciales, resinas y principios amargos.
2. El compuesto administrado por vía oral se catalogó como no clasificado para el ensayo de dosis límite.
3. La determinación del Índice de Irritabilidad Dérmica Primaria permite clasificar a los extractos investigados como no irritantes sobre el órgano estudiado
4. El Índice de Irritabilidad oftálmica permite clasificar los extractos hidroalcohólico de propóleo rojo como no irritante sobre las estructuras oculares.
5. Estos extractos de propóleo fueron comercializados a Suchel Camacho para la fabricación de cosméticos.

Referencia Bibliográfica

1. Asís M. Propóleo: el oro púrpura de las abejas. Ed. Centro de Información y Documentación Agropecuaria. La Habana, 1991.
2. Bianchi EM. Preparación de tintura, extracto blando, pomada o ungüento, jabón y otros productos a base de propóleos. Serie. Apiacta : revista internacional técnica, económica y de información apícola. XXX (2):56-63, 2005.
3. ECETOC. Monograph 14 "Eye irritation". Brussels, Belgium, 1990. (Actualizado, 2004).
4. Hayes AW. Acute Toxicity and Eye Irritation. Principles and Methods of Toxicology. Raven Press.LTD.579-691, 1994.
5. Martínez-Flórez S., González-Gallego J., Culebras J. M. y Muñón M. J. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes.
6. Norma Ramal de Salud Publica; 1992 (NRSP).
7. Pérez TG. Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. Rev Cubana Invest Biomed 2003; 22(1).