

USO DE LA LIGNINA DE BAGAZO CON FINES MEDICINALES

Cruz Rolando¹, Dopico Daisy¹, Figueredo José², Rodríguez Maira³, Martínez Gregorio⁴

RESUMEN

Diversas instituciones de la República de Cuba trabajan en el desarrollo de fármacos a partir de preparados de lignina de bagazo. El presente reporte describe los resultados obtenidos en la evaluación de un preparado medicinal (derivado químico de la lignina alcalina de bagazo), registrado bajo el nombre de LIGMED-A; antidiarreico para uso veterinario y primero de una serie de productos en estudio, el cual tiene propiedades enterosorbentes, resultando ser efectivo en el tratamiento de trastornos del estómago y el intestino de distintas especies animales, además ha demostrado su capacidad germicida y su poder atrapador de radicales libres.

Palabra clave : Lignina, antidiarreico

ABSTRACT

Various Cuban institutions are working in the development of drugs from bagasse lignin. The present paper describes the results obtained in the evaluation of a medical preparation (chemical derivative of alkaline lignin), registered as LIGMED-A, an antidiarrheal drug for veterinary use. It is the first of a series of products under study, which has enterosorbent properties and has proved to be effective in the treatment of stomach and intestinal disorders in the different animals. Also, it has demonstrated germicidal power and capacity of trap free radicals.

Key word : Lignin, anti-diarrheal

INTRODUCCION

La lignina es un polímero natural heterogéneo, **L**de carácter aromático, constituyente característico de las plantas, el cual está formado por unidades de tipo fenilpropano sustituidas y usualmente asociado a la celulosa y a las hemicelulosas. La multifuncionalidad química de la lignina imparte a ésta propiedades muy variadas y permiten un apreciable número de transformaciones químicas.

La primera aplicación medicinal de la lignina que se tiene referencia fue la utilización de la lignina hidrolítica en la producción de un preparado para el tratamiento de trastornos agudos del estómago y el

intestino basado en su gran poder de adsorción²⁸. Un procedimiento similar fue posteriormente usado en la producción de un preparado de lignina medicinal nombrado Polifepan, el cual se usó para el tratamiento de trastorno digestivos¹⁴.

Posteriormente, se han reportado múltiples actividades biológicas de la lignina^{23,24}. Así por ejemplo, se conoce que inhibe el crecimiento del mosaico del tabaco³³, suprime la proliferación del hepatoma AH414 y su hepatocarcinógenesis¹⁵, así como un efecto protector de las células del hígado contra las lesiones producidas por los antibióticos¹⁷. Se ha demostrado que fracciones solubles de lignina^{32,8,13,3} presentan actividad antiviral sobre el virus del Herpes simplex 1 y 2, la encefalitis equina y el HIV; destacándose los estudios de Nagata y Harada^{21,9} donde se plantea el uso de la lignina extraída de diferentes plantas como inactivante del virus de la Hepatitis B.

1 UIP de la celulosa del Bagazo, Cuba -9.

2 Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Cuba.

3 Centro de Investigaciones y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM), Cuba.

4 Centro de Investigaciones y Evaluaciones Biológicas (CIEB), Universidad de la Habana, Cuba.

Los extractos de lignina obtenidos del *Pino Parviflora* Sieb et Zucc, no solamente inducen la actividad antitumoral²⁷, antimicrobiana¹⁰ y antiparasitaria¹ en monos, sino que también muestran un amplio espectro antiviral frente al virus de la inmunodeficiencia HIV^{13,34}, el virus de la Influenza A y el virus del Herpes simplex²⁰.

Los polímeros de deshidrogenación del ácido cafeico (DHP-CA), ácido ferúlico (DHP-FA) y del ácido coumárico (DHP-pCA), también llamados ligninas sintéticas, muestran actividad antiviral frente al virus de la Influenza comparable con la de las ligninas naturales²⁰. Las ligninas sintéticas (DHP-FA) y (DHP-pCA) inhiben la citopatogenicidad de la infección de los virus HIV-1 y HIV-2. Estos resultados sugieren que la estructura polifenólica de las ligninas es la responsable de la actividad antiviral³⁰.

Una importante propiedad de la lignina es su poder antibiótico, lo que ha sido objeto de estudio por varios investigadores, Akhemedov y colaboradores² prepararon un antibiótico basado en diacetato de eugenol, el cual inhibe el crecimiento de las salmonelas, estafilococos y numerosos actinomicetos. Otros autores^{18,35} estudiaron el efecto de extractos alcalinos del material lignocelulósico en ratas infestadas con *E. coli* y encontraron un gran poder antimicrobiano de estos preparados al curarse los animales después del tratamiento.

Otro aspecto extensamente tratado en la literatura especializada es el poder antitumoral de la lignina y sus derivados. Se ha logrado demostrar que produce un potencial efecto anticancerígeno en el colon de ratones²⁹, inhibe el crecimiento de sarcomas en células de ratón (FRUKTO)³¹ y la promoción de tumores cancerígenos en la piel¹², sugiriendo estos resultados que la lignina y sus derivados pudieran ser usados como quimioterapéuticos para ciertos tipos de tumores¹⁹.

También, se han aplicado derivados de la lignina en el tratamiento de heridas supurantes de diferentes etiologías¹¹; en el tratamiento de infecciones cutáneas²⁵ y la Hipercolestiremia²⁶ con buenos resultados. Recientemente, se ha reportado la utilización de un enterosorbente con base lignina, denominado «Lignosorb», en el tratamiento de la peritonitis¹⁶ y otras patologías.

En Cuba, se ha probado que el LIGMED-A, derivado químico de la lignina de bagazo, muestra actividad antidiarreica frente a diferentes especies animales^{6,7} comparable con la de los principales

fármacos que se usan en el país en el tratamiento de esta patología.

El presente trabajo pretende resumir algunos de los resultados obtenidos hasta el presente en la evaluación de dicho fármaco.

DESARROLLO DE LIGMED-A

El LIGMED-A es un derivado químico de la lignina alcalina de bagazo de la caña de azúcar obtenido de los licores residuales de la producción de pulpa química, este producto ha sido objeto de una evaluación completa que incluye: caracterización química, estudios preclínicos, test de tolerancia en cerdos, ovinos y bovinos, test de toxicidad, medición de posibles efectos mutagénicos y ensayos de estabilidad en anaquel, ensayos clínicos como antidiarreico en cerdos crías, capacidad germicida y poder de atrapar radicales libres. Toda la evaluación fue realizada teniendo en cuenta lo establecido en las normas cubanas que establecen las Buenas Prácticas de Producción de Productos Farmacéuticos y las Buenas Prácticas de Laboratorio^{4,5}

Los estudios se complementan en la actualidad sobre la base de lograr la optimización de las dosis, la diversificación de los usos, la aplicación preventiva del producto y el escalado de la tecnología de producción.

Estudios preclínicos

Identificación y caracterización

La sustancia activa en el LIGMED-A presenta la siguiente composición elemental media:

C (%)	9,74
H (%)	5,84
O (%)	34,15
N (%)	0,31
S (%)	0,00

El LIGMED-A se caracteriza por presentar máximos de absorción en el UV a 205, 285, 330 nm y da bandas características en el IR en:

3430	-	3440 cm ⁻¹
2940	-	2950
1700	-	1710
1600	-	1605
1510		
1460		
1430	-	1440

Estudios de estabilidad

El almacenaje en condiciones de anaquel de muestras de tres lotes diferentes de LIGMED-A, a las que se les determinó el contenido del componente activo (lignina ácido insoluble), así como sus características organolépticas, mostró que en ninguno de los tres lotes sujetos a estudio se apreciaron variaciones significativas en el contenido del componente activo durante el período analizado, o sea, que no pierde su funcionalidad en las condiciones de almacenamiento en anaquel. Adicionalmente, las características organolépticas del producto se mantuvieron sin variación durante el período de prueba.

En la Figura 1 se muestra los resultados obtenidos en la evaluación de los tres lotes mencionados.

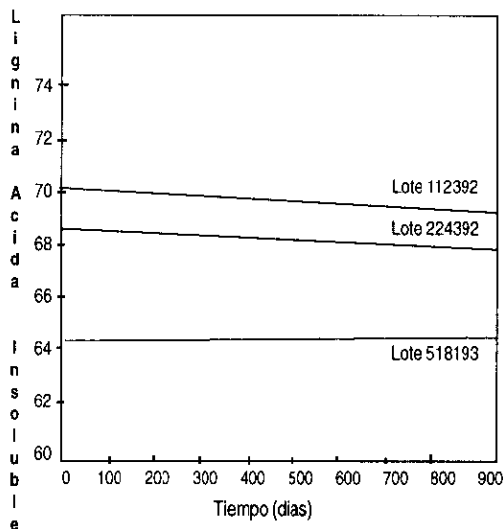


Figura 1: ESTABILIDAD EN ANAQUEL (Temperatura ambiente)

Teniendo en cuenta estos resultados, sugerimos un período de vida útil probado hasta el presente de 2 años.

Ensayos de Toxicidad

La toxicidad de LIGMED-A se evaluó de acuerdo a las normas establecidas en el Registro veterinario de la República de Cuba, mostrando los resultados obtenidos de la baja toxicidad de este producto.

Los estudios de toxicidad aguda por vía oral realizados en ratones (OF1), ratas Sprague

Dowley y Concojos F1 (semigigante blanco/ Nueva Zelandia) de ambos sexos y los de dosis repetidas durante 90 días en ratas no reportan mortalidades, signos clínicos y lesiones anatomopatológicas de toxicidad.

Los ensayos para evaluar posibles efectos mutagénicos (aberraciones cromosómicas y micronúcleos) realizados en ratas Sprague Dowley, no reportaron daños sobre el material genético.

La tolerancia general se evaluó oralmente en la especie de destino (cerdos crías de 20 ± 5 días de edad), administrando dosis hasta 20 veces la terapéutica (200 mg/kg m.c) y en terneros y ovinos (200 mg/kg m.c). No se evidenciaron mortalidad, signos clínicos, lesiones anatomopatológicas y no se alteran los índices hematológicos y bioquímicos estudiados. Estos resultados han sido objeto de publicaciones anteriores ^{7,22}

Capacidad Germicida

Tabla 1. Actividad germicida del Ligmед - A frente a ocho micro organismos

MICROORGANISMO	CMI	CBM/CFM
<i>E. coli</i>	2500	2500
<i>S. aureus</i>	1250	2500
<i>P. aeruginosa</i>	2500	EB
<i>C. albicans</i>	2500	EF
<i>M. canis</i>	5000	5000
<i>T. rubrum</i>	5000	5000
<i>E. floccusum</i>	1250	EF
<i>T. mentagrophytes</i>	5000	5000

CMI Concentración mínima inhibitoria
 CBM/CFM Concentración bactericida o fungicida mínima
 EB Efecto bacteriostático
 EF Efecto fungistático.

Partiendo de estas propiedades se han formulado pomadas antifúngicas a base LIGMED-A, las cuales se prueban *in vitro* para verificar su acción germicida.

También conociendo que el microorganismo *T. mentagrophytes* es el responsable de la tiña de las masas vacunas se formularon diferentes lociones hidroalcohólicas con base de lignina para tratar esta enfermedad, las que se encuentran en fase de estudio.

Efectividad terapéutica (Tabla 2)

Posterior a los ensayos clínicos preliminares, donde se demostró la actividad terapéutica del LIGMED-A frente al síndrome diarreico en el cerdo cría y en terneros lactantes, así como un estudio de dosis, se realizó la evaluación clínica. En la tabla 2 se reporta la efectividad terapéutica del LIGMED-A en el tratamiento de la diarrea del cerdo cría y se compara con seis de los productos más comúnmente usados en Cuba con este propósito.

Tabla 2. Efectividad terapéutica de 7 fármacos en el tratamiento de diarrea del cerdo cría.

FARMACO	EFFECTIVIDAD (%)	Dosis de reto* c/24h, 3 días
Eritromicina	73,3	1 mg/kg m.c
Diarrex	76,6	200 mg/kg m.c
Polvo antidiarreico	79,0	300 mg/kg m.c
Kenamicina	79,0	228 mg/kg m.c
Tetracan	85,0	20 mg/kg m.c
LIGMED-A	88,7	200 mg/kg m.c
Cloranfenicol	90,4	400 mg/kg m.c

*200mg/Kg.m.c.

Puede observarse en las tablas que el LIGMED-A muestra efectividad comparable con el resto de los productos evaluados en los ensayos. En el curso de los últimos tres años, el LIGMED-A ha sido usado en el tratamiento de más de 20,000 cerdos crías con diarrea. Los veterinarios han evaluado la eficiencia del tratamiento en la mayoría de los casos como satisfactoria considerando la evaluación del cuadro clínico, el número y el tiempo de los tratamientos necesarios y la necesidad de terapias adicionales. Tampoco se ha observado efectos secundarios.

Como se aprecia en la tabla 3, la recuperación de los animales es elevada ya desde las primeras 24 horas de ser aplicado el producto, lo cual disminuye considerablemente las afectaciones en los animales enfermos. Una de las ventajas de este producto es su origen natural y su uso evita las terapias con antibióticos que usualmente provocan resistencia antibiótica.

Tabla 3. Recuperación de los cerdos crías en el curso del tratamiento con LIGMED-A

TRATAMIENTO	RECUPERACION (%)
(24 horas)	61,4
(48 horas)	81,6
(72 horas)	88,7

ACTIVIDAD SECUESTRADORA DE RADICALES SUPEROXIDO DEL LIGMED-A

La actividad secuestradora se probó sobre los sistemas de generación Xantina-Xantina oxidasa (X-XO) y Pirogalol-Pirogalol oxidado (P-PO) y los resultados se encuentran en la tabla 4.

Tabla 4. Actividad secuestradora de superoxidos del Ligmed - A

Tratamiento	Sistema	
	X.XO IFC	P-PO IAP %
Blanco	0 ± 0	0 ± 0
SOD 20 IU/L	42,3 ± 4,5*	50,5 ± 3,64*
PG 1 %	3,7 ± 0,3	1,3 ± 0,2
PG 0,1%	0 ± 0,2	0,0 ± 0,0
Ligmed - A 68 mg/L	29,8 ± 6,2	49,5 ± 1,5*
Ligmed - A 6,3 mg/L	18,0 ± 0,5*	18,0 ± 0,1*
Efectos Netos*		
Ligmed - A 68 mg/L	26,1 ± 5,9*	48,2 ± 1,3
	18,0 ± 0,3*	18,0 ± 0,1

IFC Inhibición de la formación de cromógeno

IAP Inhibición de la oxidación del pirogalol

* Diferencias significativas ($p < 0,01$) con respecto al blanco

a Eliminando la influencia del blanco

PG 1% Propilenglicol solvente del LIGMED-A 68 mg/L

PG 0,1% Propilenglicol solvente del LIGMED-A 68 mg/L

Este estudio pone en evidencia la capacidad del LIGMED-A como secuestrador de los aniones superóxido y descarta la posibilidad de que el efecto observado sea el resultado de la inhibición inespecífica sobre la Xantina oxidasa, lo cual ocurre con agentes semejantes, debido a que en el sistema Pirogalol-Pirogalol oxidado son similares y en este caso no hay enzimas involucradas. Estos resultados sugieren la posibilidad de utilizar el LIGMED-A en patologías asociadas a la generación de radicales superóxido como la psoriasis, el acné y las úlceras cutáneas.

CONSIDERACIONES FINALES

La utilización de la lignina en el tratamiento de diferentes patologías es una tendencia mundial que se ha consolidado en la última década. En Cuba se ha desarrollado un derivado de la lignina de bagazo el LIGMED-A registrado para el tratamiento de las diarreas en el cerdo cría y otras especies animales. El LIGMED-A no es tóxico, presenta una efectividad terapéutica comparable con la de otros fármacos usados en el tratamiento

anti-diarreico, no se requieren condiciones para su conservación, presenta actividad germicida frente a un número de microorganismos y capacidad atrapadora de radicales superóxido. Actualmente se complementan los estudios con vistas a la introducción en el tratamiento del síndrome diarreico en humanos y se diversifican los usos de este.

BIBLIOGRAFIA

1. Abe M. *et al.* Induction of antiparasite activity by pine cone lignin-related substance. In Vivo, 1989; 3: 359-362.
2. Akhemedov MA and Fakkrutdinov SF. Antibacterial Action of Some Alkaloides Farmakologi Alkaloidov Glikosidov 1987: 245.
3. Asanaka M. *et al.* Anti-HIV Activity of a Lignin Sulfonate Pulp Waste. JPM Soc. AIDS. 1989; Res: 104.
4. Buenas Prácticas de Producción de Productos Farmacéuticos 1992; NC 26-210.
5. Buenas Prácticas de Laboratorio 1992; NAC 26-211
6. Cruz R. *et al.* 1996 Desarrollo de derivados de la lignina IV Congreso Internacional sobre Azúcar y Derivados de la Caña DIVERSIFICACION 96: 22-26 Abril, Cuba.
7. Cruz R. *et al.* LIGMED-A Registro de Medicamentos Veterinarios 1996; N° 196, Cuba.
8. Fukuchi, K. *et al.* Inhibition of Herpes Simplex Virus Infection by Pine Cone Antitumor Substances, Anticancer 1989; Res. 9313-319.
9. Harada, H. *et al.* Possible Involvement of Lignin Structure in Anti-Influenza Virus Activity Antiviral Research 1991; 15 p. 41-50.
10. Harada, H. *et al.* Induction of antimicrobial activity by anti-tumor substances from pine cone extract of Pinus Parviflora Sieb et Zucc Anticancer 1988; Res. 8 581-588.
11. Katsadze MA. *et al.* Use of Polyfepan in the treatment of suppurative wounds Vest-Khim 1989; 144(8): 42-45.
12. Kazuhito, Takahashi Inhibitory effect of topical application of polymerized ferulic acid a synthetic lignin on tumor promotion in mouse skim two-stage tumorigenesis Carcinogenesis 1994; Vol. 15 N° 9 p. 2069-2071.
13. Lai PK. *et al.* Modification of human immunodeficiency viral replication by pine cone extract AIDS Res. Human Retroviruses 1990; 6 205-217.
14. Levanova MA. *et al.* Production and use of medical lignin Problemy Komplexs Ispolz. Drev. Snyya 1984 ; 89-90.
15. Maeda H. *et al.* Third Congress of Federation of Asian Biochemists, Bangkok, Thailand. 1983.
16. Mikhailovich V. *et al.* A new effective method of organism's detoxication in diffuse peritonitis Int. Med. Rev. 1994; 2 (1) : 46-49.
17. Mizoguchi V. *et al.* Gastroenterología Japónica 1987; 22: 627-32.
18. Muenzing HP, and Shels H. Possibilities of Replacement Preservative in Cosmetics by Essencial Oil J. Soc Cosmet Chem 1992; 238-41.
19. Nagasawa H, Sakamoto S, Sawaki K. Inhibitory effect of lignin related pine cone extract on cell proliferatin enzyme activity of spontaneous mammary tumor in mice Anticancer Res. 1992; 1212 : 501-503.
20. Nagata K. *et al.* Inhibition of Influenza Virus Infection by Pine Cone Antitumor Substances Antiviral Res. 1990 :13 : 11-22.
21. Nagata K. *et al.* Inhibition of Influenza Virus Infection by Pine Cone Antitumor Substances Antiviral Res. 1989; 9 : 1593-98.
22. Navarro D, *et al.* Evaluación toxicológica del LIGMED-A Salud animal 1993; 15(31).
23. OH-Haralkeda J. *et al.* Lignified material as potential medicinal resources. Prevention of pathogenic bacterial infections in mice in vivo 1990; 4(4): 221-223.
24. OH-Hara Ikeda J. *et al.* Lignified material as potential medicinal resources. Potentiation of hemolytic plaqueformin cell production in mice Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 381990; (1) : 282-284.
25. Razmatoushi IM. The use of enterosorbent Polifepan Vestm Dermatol-Vemetol 1990; 12:36-40.
26. Remezova OV. *et al.* The comparative activity of natural and synthetic enterosorbent in experimental hyperlipidemiash Vopr. Pitan 1992; 5-6 : 52-55.
27. Sakagami H. *et al.* Antitumor activity of polysaccharide fractions from pine cone extract of Pinus Parviflora Sieb et Zucc Anticancer Res., 1987; 7 :1153-1160.
28. Sarkov J. *et al.* Utilización de la lignina en medicina Gidroliz Lesokhim. Prom. 1979; 2: 11-12.
29. Serraino M. Department of Nutritional Sciences, University of Toronto, Ontario, Canada, Cancer Lett. Apr. 1992; 15 63 (2):159-65.
30. Shimizu N. Anti HIV activity of dehydrogenation polymer of p-coumaric acid, a synthetic lignin, in a quasi-in vivo assay system as an intermediary step to clinical trials BIOL-PHARMA. BULL 16/4 1993; 434-436.
31. Sorimachi K. Differential responses of lignin derivatives between tumor and normal tissue derived cell lines: Effect on Cellular adhesion and cell growth Cell-Biol-Int. Rep. 1992; 16(3): 249-257.
32. Sorimachi K. Department of Microbiology, Dokkyo University, School of Medicine, Tochigi Japan, Cell-Biol-Int. Rep. Jan. 1992; 16(1) : 63-71.
33. Suzuki H. *et al.* Inhibition of the infectivity and citophatic effect of Human immunodeficiency virus by water-soluble Lignin in an extract of the culture medium of Lentinus edodes Mycelia» Biochemical and Biophysical Research Communications Vol. 160 1989; (1) 367-373.
34. Takagama H. *et al.* Inhibition of human immunodeficiency virus forward and reverse transcription by PCG, a natural product from cones pine of trees AIDS Res. Human Retroviruses 71991; 349-357.
35. Zemek J. *et al.* Antibiotic Properties of Lignin Components Folia Microbiological 1989; 29: 483-6.