

**INVESTIGACION DE ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE
EXTRACTOS DE ALGUNAS ALGAS MARINAS COLOMBIANAS**

(Informe de los trabajos realizados).

Profesor ENRIQUE NÚÑEZ O., M. D., Q. F., B. Q. F.

Profesor Asistente MANUEL ARTEAGA C., Q. F.
MARIO CASTRO.

Trabajo presentado en el Primer Seminario Colombiano de Ciencias del Mar. Cartagena, julio de 1971.

I. HISTORIA

Hace algo más de dos décadas se iniciaron estudios tendientes a encontrar sustancias con actividad inhibitoria del crecimiento de gérmenes, a partir de diferentes tipos de extractos obtenidos de algas marinas, recogidas en diversos sitios y en varias épocas del año.

En el año de 1951, Robertson Pratt y colaboradores (1) hacen una de las primeras publicaciones, en la que resumen los resultados de sus estudios y concluyen que los extractos etéreos y acuosos, obtenidos de varias especies de algas marinas, poseen una actividad antibacteriana, incluyendo la posibilidad de que tal actividad sea debida al ión yoduro y demuestran una íntima relación entre la cantidad de principio (s) activo (s) presente (s) y la época de recolección de las algas.

Posteriormente, los investigadores H. Mautner, G. Gardner y R. Pratt, en el año de 1953 (2), en una segunda publicación, confirman el hallazgo de una actividad de los extractos etéreos de algunas algas rojas, sobre cultivos de varios gérmenes patógenos; hacen énfasis en la inestabilidad de los principios activos y concluyen que tal actividad se debe posiblemente a una estructura molecular de tipo fenólico bromada.

A partir de este período, muchos investigadores norteamericanos, orientales y centroamericanos, continúan estudios de este tipo, introducen modificaciones a las técnicas y aparece la primera publicación suramericana, de un trabajo similar realizado en la Universidad de Santiago de Chile en el año de 1964 (3).

Las investigaciones tendientes a esclarecer las actividades farmacológicas fueron iniciadas por M. Doty y G. Aguilar (4), en el año de 1966. Tales autores dan el nombre de Caulerpicina, al principio activo extraído de la *Caulerpa racemosa*, de fórmula aproximada $C_{43} H_{87} O_2 N$ y con propiedades antibacterianas pero altamente tóxica.

Igualmente han aparecido publicaciones en que anotan acciones inhibitorias, presentadas por estos tipos de extractos, frente a cultivos de virus, como lo describen Takemoto y Spicer (5), al igual que Rothan (6), Vacca (7) y Martínez-Nadal y Rodríguez (8), (9) y (10).

II. OBJETIVOS DEL TRABAJO

Se pretende encontrar y demostrar una posible actividad antibacteriana de los extractos de algas marinas colombianas. Luégo determinar la forma adecuada de estabilizar el principio activo, caracterizarlo y determinarle sus propiedades farmacológicas y toxicológicas.

III. MATERIALES Y METODOS

A. ALGAS

Las muestras son recolectadas en diferentes sitios de nuestro litoral Atlántico, tales como Bahía Concha, Punta de Betín, Islas del Rosario, etc. Las algas se conservan en una nevera portátil, en bolsas de polietileno.

B. MEDIOS DE CULTIVO MICROBIOLÓGICO

1. Caldo nutritivo "B. B. L."

Ingredientes por litro: Gelysate peptone . .	5.0 Gr.
Extracto de carne	3.0 Gr.
pH = 6.9 después de la esterilización.	

2. Agar nutritivo. "Lab. Lemco Agar"	3.0 Gr.
Peptona (Oxoid. L-37)	5.0 Gr.
Agar	15.0 Gr.
Agua c.s.p.	1.000 ml.
pH = 7.4 después de esterilización.	

C. MICROORGANISMOS

Los gérmenes "test", son:

1. Streptococcus piogenes.
2. Micrococcus aureus.
3. Escherichia coli.
4. Pseudomona aeruginosa.
5. Bacillus subtilis.

Obtenidos del cepario del Laboratorio de Microbiología del Departamento de Farmacia.

D. EXTRACTOS

Actualmente se está trabajando con los siguientes extractos:

Etéreo, obtenido por Soxhlet: 24 horas de extracción a 32.5° C.
Etéreo, obtenido por Soxhlet, 10 horas de extracción a temperatura ambiente (16-19° C).

Etéreo, obtenido por maceración, 11 horas de extracción a temperatura ambiente.

Acuoso, obtenido por calentamiento de una suspensión del alga en solución Buffer de fosfato a pH = 6.8 (estéril) a 60° C durante 10 y 24 horas.

Acuoso, por maceración del alga en solución Buffer de fosfatos a pH = 6.8 (estéril) durante 10 y 24 horas.

E. DETERMINACION DE ACTIVIDAD:

(Se efectúa gracias a dos métodos).

1. Al medio de cultivo (agar nutritivo) aún líquido, a una temperatura de $45 \pm 2^\circ \text{C}$, se le adiciona el extracto, en una proporción del 3%. Una vez sólido, se siembran los gérmenes "test"; se hace un blanco en las mismas condiciones pero a diferencia del anterior, se agrega la solución Buffer únicamente y en la misma proporción.
2. El segundo método consiste en colocar dos capas diferentes de agar nutritivo en cada una de las cajas de Petri. La primera sirve de soporte y la segunda está inoculada con el germen "test" y es de agar blando; sobre la superficie de la última capa se colocan los extractos.

F. TRATAMIENTO DE LOS EXTRACTOS

Una vez obtenidos se dividen en porciones las cuales se emplean, unas inmediatamente y las restantes son liofilizadas. En la actualidad está estudiándose el proceso y determinándose sus ventajas.

IV. TECNICAS

- A. Obtenidos los extractos, mencionados en III-D, se procede en la forma siguiente:

A los etéreos se les adiciona una cantidad de solución Buffer estéril, aproximadamente igual al volumen del éter presente en el extracto, y se someten posteriormente a calentamiento (33° C), con el fin de recuperar el éter.

Los acuosos, se retiran por decantación y se distribuyen en recipientes pequeños.

Los gérmenes empleados se obtienen de cultivos en agar nutritivo, se siembran en caldo nutritivo estéril, y se incuban durante 16-18 horas a 37° C, para luego emplearlos en los diferentes ensayos.

B. La determinación de la actividad de los extractos se realiza en la siguiente forma:

Primer método.

Poco antes de que el agar nutritivo solidifique (45° C aproximadamente), se agrega una cantidad de extracto suficiente para lograr una concentración del 3%, se agita suficientemente, se deja luego solidificar el medio y se siembra con cada germen.

El blanco se hace en igual forma exceptuando la inclusión del extracto (se agrega solamente la solución Buffer), se incuban estos medios por 24 horas a 37° C y se hacen las observaciones pertinentes.

Segundo método.

Aplicar el agar que sirve de base (agar nutritivo), en cada una de las cajas de Petri. Posteriormente adicionar la capa de agar blando, inoculada con su respectivo germen (al 5% aproximadamente). Una vez sólido, aplicar el extracto en diferentes puntos, suficientemente separados unos de otros. Incubar a 37° C, por 24 horas y hacer las observaciones del caso.

V. RESULTADOS

De las observaciones hechas sobre 10 algas diferentes se pueden, hasta el momento, adelantar las siguientes anotaciones:

Las algas:

1. *Halimeia opuntia*.
2. *Ulva lactuca* (Var. Rígida).

Con resultados francamente negativos.

Las algas:

3. *Gracilaria mamillaris*.
4. *Agardhiella tenera*.

BIBLIOGRAFIA

1. ROBERTSON PRATT y colaboradores. Report on Antibiotic Activity of Seaweed Extracts. J. Am. Pharm. Assoc. 40, 575-9 (1951).
2. H. MAUTNER, G. GARDNER, R. PRATT. Antibiotic Activity of Seaweed Extracts II. Rhodonela Larix, J. Am. Pharm. Assoc. 42, 294-6 (1953).
3. GIARDELLI, CARLOS. Anales de la Facultad de Química y Farmacia, Universidad de Santiago de Chile. XVI - 114 (1964).
4. M. DOTY, G. AGUILAR. Caulerpicina, un constituyente tóxico de Caulerpa, Nature, 211: 990 (1966).
5. TAKEMOTO, SPICER. Efectos de polisacáridos naturales y sintéticos sobre virus y células. Ann. N. Y. Acad. Sci. 132: 365 (1965).
6. KATHAN, R. Extractos de algas con sustancias antivirales. Am. N. Y. Acad. Sci. 130-390-8 (1965).
7. VACCA, J. El extracto antibacterial obtenido de Ascophyllum nodosum. J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed. 43, 24-26 (1954).
8. MARTÍNEZ NADAL, RODRÍGUEZ. Propiedades antibióticas de algas marinas. Bot. Mar., 9: 21-6 (1966)a.
9. MARTÍNEZ NADAL, RODRÍGUEZ. Efectos tóxicos bajos de sust. antimicrobianas de algas marinas. Bot. Mar., 9: 62-3 (1966)b.
10. MARTÍNEZ NADAL, RODRÍGUEZ. Sorganina y conalgina, nuevos antibióticos de algas. Publ. by Am. Soc. Microbiol. 68-72 (1964).
11. MARTÍNEZ NADAL, RODRÍGUEZ. Separación y caracterización de complejos de sorganina. Publ. by Am. Soc. Microbiol. 131-4 (1965).