

Estabilidad en el tiempo de relajación magnética de la solución CM-95

Stability in the magnetic relaxation time of the CM-95 solution

Benítez-Guerra Niurka¹, Martínez-Manrique Clara E², Barcaz-Rosales Licet¹, Pelegrín-Gamboa Ángel L¹, Almeida-Acosta Yordanki¹, Rodríguez-Zamora Reynerio¹

¹ Empresa Laboratorio Farmacéutico Líquidos Orales, Medilip, Dirección de Desarrollo, Grupo de Investigación y Desarrollo, Bayamo, Cuba.

² Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado, CNEA, Dirección de Ciencia e Innovación, Santiago de Cuba, Cuba.

<http://dx.doi.org/10.30827/ars.v6i2.13550>

Artículo original Original Article

Correspondencia Correspondence

Niurka Benítez Guerra
niurka@medilip.biocubafarma.cu

Financiación Fundings

Sin financiación

Conflicto de interés Competing interest

No existen conflictos de intereses con ningún autor

Agradecimientos Acknowledgements

Received: 20.02.2020
Accepted: 26.03.2020

RESUMEN

Introducción: la solución CM-95 constituye un candidato a medicamento inmunomodulador en la terapia de pacientes con cáncer, el que debe cumplir las Buenas Prácticas de Producción con el correspondiente control de calidad y estabilidad, según las regulaciones vigentes. Se determinó la estabilidad de la solución CM-95 y el conteo de leucocitos en ratones Balb/c en el tiempo de relajación magnética.

Método: se elaboraron tres lotes pilotos, los que fueron sometidos a estudios de estabilidad de vida de estante y acelerado. Los índices de calidad determinados antes y después del tratamiento magnético fueron: características organolépticas, pH, conductividad eléctrica, valoración del cloruro de sodio, concentración del preservativo y control microbiológico. Se determinó el conteo de leucocitos totales en ratones Balb/C antes y después del tratamiento.

Resultados: se demostró el cumplimiento de los parámetros establecidos en condiciones aceleradas y vida útil de la solución, sin y con tratamiento magnético. Se demostró la utilidad del sistema envase - cierre seleccionado durante el estudio. El conteo total de leucocitos mostró variaciones con respecto al control hasta los dos meses como efecto del tratamiento magnético.

Conclusiones: se demostró el cumplimiento de los índices de calidad establecidos de la solución CM-95 tratada magnéticamente, en las condiciones aceleradas y de vida útil empleando ambos tipos de envase. Se evidenció la activación de la respuesta inmune a partir del tratamiento hasta los dos meses. Se comprobó que el tiempo de relajación magnética de la solución fue de dos meses.

Palabras clave: solución CM-95; relajación magnética; estabilidad

ABSTRACT

Introduction: the CM-95 solution constitutes a candidate for immunomodulatory medication in the therapy of cancer patients, who must comply with Good Production Practices with the corresponding quality and stability control, according to current regulations. It was determined the stability of the CM-95 solution and the leukocyte count in Balb / c mice at the time of magnetic relaxation.

Methods: three pilot lots were prepared, which were subjected to shelf stability and accelerated life studies. The quality indices determined before and after the magnetic treatment were: organoleptic characteristics, pH, electrical conductivity, sodium chloride titration, preservation concentration and microbiological control. Total white blood cell count in Balb / C mice was determined before and after treatment.

Results: compliance with the parameters established in accelerated conditions and solution life, without and with magnetic treatment, was demonstrated. The utility of the container-closure system selected during the study was demonstrated. The total white blood cell count showed variations with respect to the control up to two months as an effect of the magnetic treatment. **Conclusions:** compliance with the established quality indices of the magnetically treated CM-95 solution was demonstrated, under accelerated conditions and useful life using both types of packaging. The activation of the immune response was evident from the treatment up to two months. It was found that the magnetic relaxation time of the solution was two months.

Keywords: CM-95 solution; magnetic relaxation; stability

INTRODUCCIÓN

Las sustancias inmunoestimulantes convertidas en fármacos han propiciado la terapia de enfermedades de gran impacto social, como las bacterianas, virales o parasitarias, incluidas las que producen inmunodeficiencias severas como el sida o el cáncer. A su vez, estas sustancias poseen mecanismos que modulan la respuesta inmune, con la rehabilitación de procesos inflamatorios y de repitelización, que demandan muchas patologías. Dentro de estas se encuentra la radiodermatitis que se produce como efecto secundario de la radioterapia aplicada para el tratamiento a los pacientes con cáncer^(1,2).

Diferentes estudios reportan que la aplicación del campo magnético, así como de sistemas acuosos tratados con campos magnéticos, son capaces de producir efectos biológicos *in vivo e in vitro*, incluido la sensibilización del sistema inmune. A su vez, estos campos, por sus niveles bajos de energía, son considerados generalmente inocuos a la salud humana, ya que son incapaces de producir daños en el metabolismo de organismos vivos⁽³⁻⁶⁾.

Diferentes investigaciones han demostrado los efectos inmunomoduladores del sistema acuoso solución CM-95 tratado magnéticamente como adyuvante inmunológico para la obtención de sueros inmunes contra bacterias Gram+ y Gram -, así como, para proteínas del suero sanguíneo humano. Además, se ha demostrado la modulación de la respuesta inmune innata y adquirida humoral y celular, y su seguridad con estudios preclínicos toxicológicos⁽⁷⁻¹⁴⁾. Estos resultados han permitido desarrollar intervenciones clínicas en pacientes psoriáticos, oncológicos para rehabilitar o prevenir la radiodermatitis producida por la radioterapia y con úlceras venosas⁽¹⁵⁻¹⁷⁾.

La producción de un medicamento para su comercialización requiere de una exigente política de calidad, donde se deben cumplir regulaciones nacionales e internacionales que propicien el aseguramiento de la misma, denominadas Buenas Prácticas de Manufactura^(18,19).

Dentro del control de calidad de los medicamentos los análisis químicos constituyen herramientas imprescindibles. Estos se enriquecen continuamente con el aporte de los métodos físicos, químicos e instrumentales contando con un amplio espectro de ellos. Para aplicarlos requieren ser validados dentro de la etapa de investigación-desarrollo del producto^(20,21). En la misma se definen los criterios de aceptación del producto que demuestran su estabilidad.

La estabilidad es otro requisito de calidad que debe cumplir un producto farmacéutico, quizás el más importante ya que define su período de validez o vida útil. La misma puede

ser química, física y microbiológica^(19,21,22). Por tanto involucra diferentes análisis preestablecidos en las monografías.

El presente estudio tiene como objetivo determinar la estabilidad de la solución CM-95 y el conteo de leucocitos en ratones Balb/c en el tiempo de relajación magnética.

MÉTODOS

Productos químicos y reactivos

Cloruro de sodio (Hebei Huachen, China). El patrón de benzoato de sodio fue suministrado por la Farmacopea Americana. El resto de los reactivos y soluciones fueron de calidad analítica (Merck, Alemania).

Formulación de la solución CM-95

La solución CM-95 estuvo compuesta por cloruro de sodio 0,9 g/100 mL como Ingrediente Farmacéutico Activo (IFA), benzoato de sodio como preservante⁽²³⁾, ácido cítrico monohidratado⁽²⁴⁾ para regular el pH del medicamento y agua purificada como vehículo. Las concentraciones empleadas para cada uno de los excipientes se encontraban en los rangos usuales para esta forma farmacéutica.

Se elaboraron tres lotes pilotos de la formulación, de 100 L cada uno, identificados como 8001, 8002 y 8003, los que fueron envasados en frascos de vidrio ámbar de 250 mL con boca de 28 mm, con capacidad nominal de 250 mL y rebosante de $260 \pm 4,8$ mL, para uso farmacéutico y frascos de polietileno tereftalato (PET) ámbar de 250 mL con boca de 28 mm, con capacidad nominal de 250 mL y rebosante de $264 \pm 3,0$ mL, para uso farmacéutico. Para ambos frascos se emplearon tapas de polipropileno de diámetro 28 mm.

Tratamiento magnético

El tratamiento magnético a la solución se aplicó en un dispositivo, a imanes permanentes, no homogéneo, que generó inducciones magnéticas en el rango de (0,01 - 0,16) T, construido y caracterizado por el Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado (CNEA) de Santiago de Cuba y certificado según las regulaciones internacionales referidas en el certificado N004-001⁽⁷⁾.

Evaluación de la estabilidad durante el tiempo de relajación magnética

El estudio de estabilidad de la solución CM-95 con y sin tratamiento magnético se desarrolló durante dos meses en condiciones de vida de estante y aceleradas en el Laboratorio Farmacéutico Líquidos Orales, Medilip.

Las condiciones aceleradas se realizaron a una temperatura de almacenamiento de (40 ± 2) °C y humedad relativa de (75 ± 5) %, y en vida de estante a una temperatura de

almacenamiento de (30 ± 2) °C y humedad relativa de (70 ± 5) %⁽¹⁸⁾. Para ello se seleccionaron seis frascos por lote de la solución CM-95 sin tratamiento magnético (STM) y con tratamiento magnético (TM).

Para la evaluación de la estabilidad de la formulación se seleccionaron los parámetros que a continuación se describen:

Características organolépticas: se transfirieron 20 mL de la muestra a un vaso de precipitados de 25 mL y se evaluaron el aspecto, el color y el olor. Se aceptaron líquidos transparentes, incoloros y con olor característico a benzoato de sodio. Se evaluó a tiempo inicial y a los 2 meses.

Medición de pH: se transfirieron 20 mL de la muestra a un vaso de precipitado de 25 mL, tomando la lectura a 25 °C. Para la medición se utilizó un medidor de pH Basic 20+, España. La determinación se realizó por triplicado aceptando valores de 4,0 - 4,5. Se midió a las 0,5, 72, 360, 720 y 1464 horas (2 meses).

Conductividad eléctrica: antes de realizar las mediciones se realizó el ajuste de la celda con el patrón de 12,88 mS/cm a 25 °C. Se transfirieron 20 mL de la muestra a un vaso de precipitado de 25 mL, empleando un conductímetro Basic 30, España. La determinación se realizó por triplicado aceptando valores de (13,0 -18,0) mS/cm. Se midió a las 0,5, 6, 24, 72, 360, 720 y 1464 horas.

Valoración del cloruro de sodio: se empleó un método volumétrico⁽²⁵⁾, previamente validado en la entidad, usando el nitrato de plata como valorante y el cromato de potasio como indicador. Se consideró adecuada la formulación si el contenido del cloruro de sodio se encontraba entre (0,81-0,99) mg/100 mL, (90,0 - 110,0) %.

Determinación del benzoato de sodio: se determinó mediante un método cromatográfico en fase reversa con detección UV-visible, previamente validado en la entidad, cuyas condiciones fueron: columna LiCrospher RP-18 100 Å (5 µm) 150 mm - 4,6 mm (Teknokroma, España). Se empleó como fase móvil una proporción de 53/47, compuesta por 530 mL de una solución de agua purificada con 146 µL de trietilamina y 750 µL de ácido fosfórico y ajustando a pH 3.3 con solución de hidróxido de potasio 10 %, y 470 mL de acetonitrilo. La velocidad de flujo de 2,0 mL/min y la longitud de onda empleada fue de 280 nm inyectándose 20 µL. Se consideró adecuada la formulación si el contenido de benzoato de sodio se encontraba entre (0,9 - 1,1) mg/mL, (90,0-110,0) %.

Conteo microbiano diferencial: el conteo de hongos se realizó por el método de placa vertida y el conteo de bacterias se realizó por el método de tubos múltiples⁽¹⁹⁾. Además, se realizó el aislamiento e identificación de los microorganismos

que aparecieron en los límites por técnicas microbiológicas convencionales. Se aceptaron como criterios 100 bacterias por mL, 10 hongos por mL, no *Enterobacterias*, no *Pseudomona aureoginosa*, no *Staphylococcus aureus*, no *Candida albicans*.

Conteo de leucocitos totales en ratones Balb/c

Este ensayo se realizó en el Laboratorio de Preclínica del CNEA.

Biomodelos experimentales: se seleccionaron ratones Balb/c machos de seis semanas de nacidos y de (18 - 22) g de peso promedio, suministrados por el Laboratorio de Anticuerpos y Biomodelos Experimentales Labex. Los mismos se alimentaron con ratonina y agua acidulada at libintum. Se mantuvieron en cajas plásticas a una temperatura de (22 ± 2) °C y humedad relativa de (60 - 65) %, con régimen 12 horas luz y 12 horas oscuridad. El uso de los animales de laboratorio fue aprobado por el Comité de Ética de animales de laboratorio del CNEA. Los roedores fueron atendidos según las guías para el cuidado y uso de animales de laboratorio⁽²⁶⁾.

Para conocer los efectos de la solución CM-95 tratada magnéticamente sobre los leucocitos totales de ratones Balb/c, a cinco animales por cada grupo experimental le fueron inoculados 0.2 mL, antes y después de su tratamiento magnético, respectivamente. La inoculación se realizó a (25 ± 2) °C, para simular las condiciones de un laboratorio y a la temperatura ambiente (30 ± 2) °C. Luego se determinaron los efectos sobre los leucocitos sanguíneos transcurridos 0,5, 2, 6, 24, 48, 72, 168, 360, 720 y 1464 horas después de haber realizado la inoculación.

Conteo total de leucocitos: se realizó el sangrado parcial de los animales, a través del plexo retro orbital del ojo en cada ratón a los tiempos antes señalados. Se mezclaron 2 µL de la sangre obtenida con 0,38 mL de ácido acético al 2 %, luego se agitó y se realizó el conteo de leucocitos en cámara de Neubauer con un aumento de 400X en microscopio óptico (Olympus, Japón). Los resultados fueron expresados en 10^9 células /mL⁽²⁷⁾.

Todos los datos fueron procesados con un paquete estadístico en soporte electrónico SPSS 9.0 para Windows 2003. Se aplicó un ANOVA de clasificación simple y luego se compararon las medias a través de la prueba de Tukey, con un nivel de significación de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Los resultados del pH de la solución CM-95, antes y después del tratamiento magnético, en ambos envases se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1: Valores de pH ($X \pm DS$)

T (h)	Vida de estante				Acelerado			
	STM	TM			STM	TM		
		8001	8002	8003		8001	8002	8003
Frascos de vidrio								
0,5	4,29+0,00	4,30+0,01	4,30+0,00	4,27+0,01	4,29+0,00	4,30+0,01	4,30+0,00	4,27+0,01
72	4,30+0,02	4,34+0,01	4,35+0,01	4,21+0,01	4,30+0,01	4,34+0,02	4,34+0,01	4,20+0,00
360	4,22+0,01	4,29+0,00	4,27+0,00	4,20+0,02	4,22+0,01	4,33+0,00	4,28+0,00	4,21+0,01
720	4,18+0,00	4,31+0,01	4,24+0,01	4,25+0,00	4,18+0,00	4,35+0,00	4,31+0,01	4,30+0,00
1464	4,22+0,00	4,36+0,01	4,21+0,00	4,43+0,00	4,22+0,00	4,41+0,00	4,32+0,00	4,46+0,00
Frascos PET								
0,5	4,29+0,00	4,32+0,01	4,32+0,01	4,21+0,01	4,29+0,00	4,32+0,01	4,32+0,01	4,21+0,01
72	4,31+0,01	4,34+0,01	4,17+0,01	4,18+0,01	4,31+0,00	4,30+0,01	4,17+0,01	4,20+0,01
360	4,29+0,01	4,26+0,00	4,28+0,01	4,36+0,01	4,29+0,01	4,29+0,00	4,28+0,01	4,30+0,01
720	4,25+0,00	4,26+0,01	4,26+0,00	4,24+0,01	4,25+0,00	4,29+0,01	4,26+0,00	4,29+0,01
1464	4,29+0,00	4,25+0,01	4,26+0,00	4,37+0,00	4,29+0,00	4,29+0,01	4,26+0,00	4,42+0,00

STM: solución CM-95 sin tratamiento magnético, TM: solución CM-95 tratada magnéticamente, DS: desviación estándar

En ambos tipos de envase y en las dos condiciones del estudio, se cumplió con el índice de calidad establecido de pH entre 4,0 - 4,5, para los tres lotes evaluados. También se registraron variaciones en los valores de pH de la solución CM-95 tratada magnéticamente con respecto a la que no recibió tratamiento.

El comportamiento de la conductividad eléctrica se registró para tres lotes de la solución CM-95 STM y TM, en las condiciones de estabilidad acelerada tal como se muestra en la Figura 1.

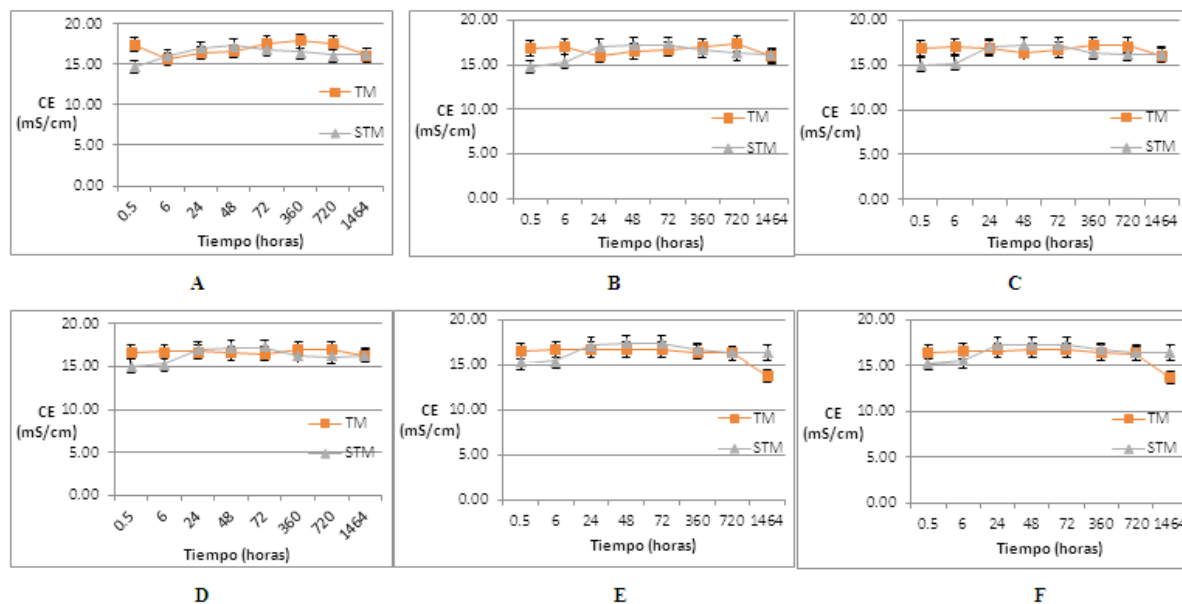


Figura 1: Valores promedio de la conductividad eléctrica de la solución CM-95 STM y TM en condiciones aceleradas, A- Lote 8001 vidrio, B- Lote 8001 PET, C- Lote 8002 vidrio, D- Lote 8002 PET, E- Lote 8003 vidrio, F- Lote 8003 PET.

La Figura 2 muestra los resultados de la conductividad eléctrica en las condiciones de estabilidad en vida de estante.

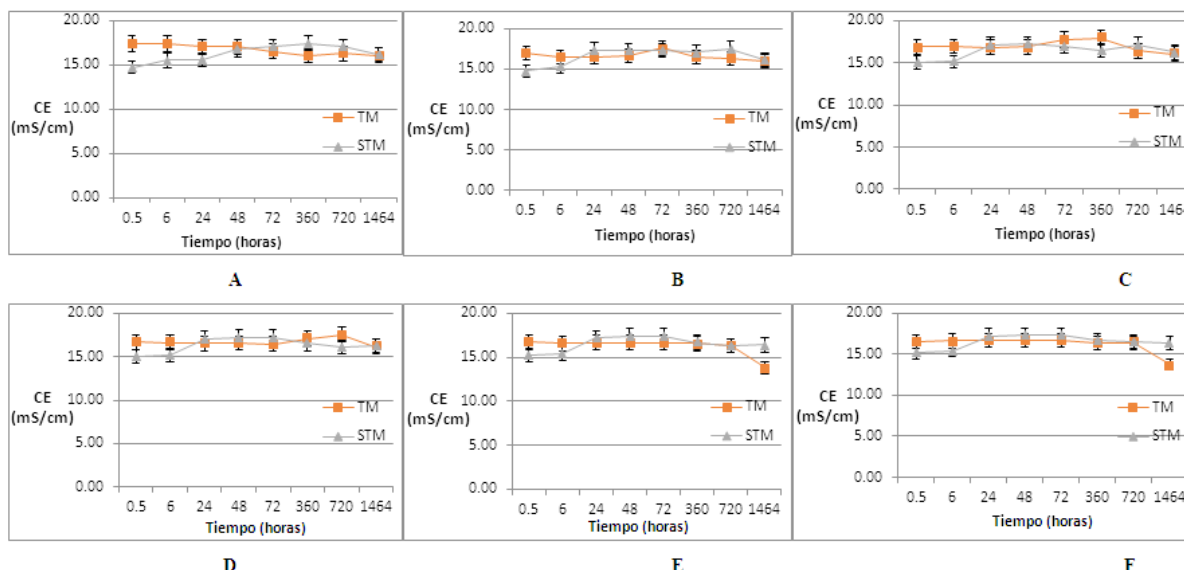


Figura 2: Valores promedio de la conductividad eléctrica de la solución CM 95 STM y TM en condiciones de vida de estante, A- Lote 8001 vidrio, B-Lote 8001 PET, C- Lote 8002 vidrio, D- Lote 8002 PET, E- Lote 8003 vidrio, F- Lote 8003 PET.

Para ambos tipos de envase y en las dos condiciones del estudio, se cumplió con el índice de calidad establecido entre (13,0 - 18,0) mSm/cm, para los tres lotes evaluados. Tanto en las condiciones aceleradas como de vida de estante, los valores de conductividad a los dos meses, se igualaron para

la solución STM y TM, independientemente del envase empleado.

Los resultados de la estabilidad química y microbiológica de la solución CM-95 STM y TM en frascos de vidrio se reflejan en la Tabla 2.

Tabla 2: Valoración química y conteo microbiano de la solución CM-95 en frascos de vidrio

Parámetro	Frecuencia (meses) STM		8001			8002			8003		
			TM		STM	TM		STM	TM		
			VE	Acel		VE	Acel		VE	Acel	
Cloruro de sodio	0	Xm (%)	101,00	100,80	100,80	100,80	100,14	100,14	102,10	101,43	101,43
		DS	0,35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
		CV (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	Xm (%)	101,00	100,79	100,63	100,79	100,36	100,36	100,79	100,70	100,10
		DS	0,35	0,00	0,12	0,00	0,38	0,38	0,00	0,52	0,00
		CV (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00
Benzoato de sodio	0	Xm (%)	100,30	98,57	98,57	99,30	102,80	102,80	104,97	104,30	104,30
		DS	0,30	0,64	0,64	0,27	0,44	0,44	0,78	0,10	0,10
		CV (%)	0,00	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00
	2	Xm (%)	99,93	98,33	98,17	99,10	99,10	99,07	101,57	100,55	100,42
		DS	0,06	0,06	0,06	0,10	0,00	0,06	0,12	0,02	0,02
		CV (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Conteo microbiano	0 meses	Conteo de bacterias: < 10 ² ufc/mL. Conteo de hongos y levaduras: < 10 colonias/mL, Ausencia de microorganismos patógenos al inicio y al final del ensayo,									
	2 meses										

Xm: valor medio, DS: desviación estándar, CV: coeficiente de variación, solución CM-95 sin tratamiento magnético (STM) y tratada magnéticamente (TM), estudio de vida de estante (VE), estudio acelerado (Acel)

Durante los dos meses de estudio acelerado, los tres lotes STM y TM se mantuvieron como líquidos transparentes, incoloros y con olor característico a sodio benzoato. El cloruro de sodio no mostró una degradación mayor al 5 %, con valores de 0,18 %, 0,21 % y 0,97 %, respectivamente⁽²²⁾. De forma similar se comportó la concentración del benzoato de sodio, obteniéndose coeficientes de variación muy por de-

bajo del 1 %. Los análisis correspondientes al conteo microbiano ofrecieron resultados acordes con lo establecido⁽¹⁹⁾.

En la Tabla 3 se muestran los resultados de la estabilidad química y microbiológica de la solución CM-95 STM y TM en frascos PET.

Tabla 3: Valoración química y conteo microbiano de la solución CM-95 en frascos PET

Parámetro	Frecuencia (mes) STM		8001			8002			8003		
			TM		STM	TM		STM	TM		
			VE	Acel		VE	Acel		VE	Acel	
Cloruro de sodio	0	Xm (%)	101,00	100,97	100,97	100,77	100,17	100,17	102,07	101,30	101,30
		DS	0,35	0,00	0,00	0,06	0,06	0,06	0,06	0,00	0,00
		CV (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	Xm (%)	101,00	100,79	100,78	100,75	100,58	100,36	100,67	100,70	100,07
		DS	0,35	0,00	0,01	0,05	0,38	0,38	0,06	0,52	0,06
		CV (%)	0,00	0,00	5,73 E-05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00
Benzoato de sodio	0	Xm (%)	100,30	99,47	99,47	99,97	102,40	102,40	105,00	104,27	104,27
		DS	0,30	0,06	0,06	0,12	0,10	0,10	0,79	0,06	0,06
		CV (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	Xm (%)	100,43	99,33	99,13	99,80	99,87	99,83	100,90	100,80	100,57
		DS	0,12	0,15	0,06	0,17	0,06	0,12	0,10	0,10	0,15
		CV (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Conteo microbiano	0 meses	Conteo de bacterias: < 10 ² ufc/mL. Conteo de hongos y levaduras: < 10 colonias/mL, Ausencia de microorganismos patógenos al inicio y al final del ensayo,									
	2 meses										

Xm: valor medio, DS: desviación estándar, CV: coeficiente de variación, solución CM-95 sin tratamiento magnético (STM) y tratada magnéticamente (TM), estudio de vida de estante (VE), estudio acelerado (Acel), ufc: unidades formadoras de colonias

En las condiciones de vida de estante, las características organolépticas se mantuvieron dentro de los límites de aceptación establecidos para la solución STM y la TM al igual que el conteo microbiano. La concentración del IFA en el tiempo, al igual que en condiciones aceleradas, mostró una variación inferior al 5 % (0,01 %, 0,32 % y 0,67 %, respectivamente), de la cantidad declarada inicialmente, aunque los valores promedios son ligeramente superiores a los obtenidos en el estudio acelerado. De forma similar se comportó la concentración del benzoato de sodio, obteniéndose coeficientes de variación muy por debajo del 1 %.

En la Figura 3 se observa que los mejores valores en el conteo de leucocitos totales se obtuvieron para el tratamiento

magnético a temperatura ambiente (30 ± 2) °C, con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) con respecto al grupo con tratamiento magnético a los (25 ± 2) °C, a las 360 y 720 horas. Ambos grupos de tratamiento presentaron diferencias estadísticamente significativas a los diferentes tiempos evaluados con respecto al grupo sin tratamiento magnético. A las 1464 horas (2 meses) los grupos con tratamiento magnético igualaron sus valores de leucocitos totales al grupo sin tratamiento magnético sin diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

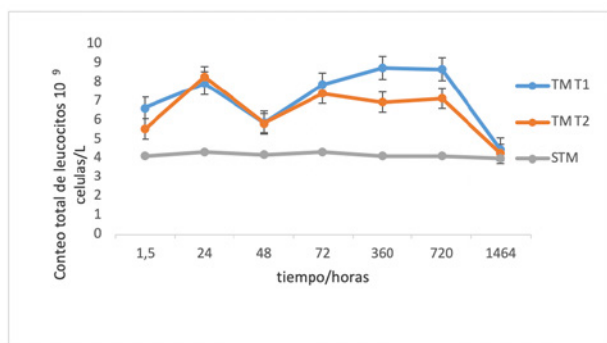


Figura 3. Conteo total de leucocitos en ratones Balb/c con la solución CM-95 sin tratamiento magnético (STM) y tratada magnéticamente (TM) a 30 ± 2 °C (T1) y 25 ± 2 °C (T2).

DISCUSIÓN

La aplicación de temperaturas diferenciadas en el estudio de estabilidad, unido al tipo de envase, pudieron haber influido en las variaciones del pH registradas hasta los dos meses de evaluación, aunque en todos los casos se mantuvieron en el rango establecido. Se demostró la utilidad del regulador de pH empleado, el cual le confirió mayor estabilidad a pesar de las diferentes temperaturas y el efecto del campo magnético.

El campo magnético aplicado a la solución en el rango de inducciones entre (0,01 - 0,16) T, produjo cambios en la estabilidad de los enlaces por puentes de hidrógeno que unen los aglomerados de las moléculas de agua en la solución, con menos moléculas de agua unidas por enlaces de hidrógeno. Estas podrían polarizarse para quedar las cargas de los hidrogeniones expuestas en mayor medida, obteniéndose valores de pH superiores. De igual manera podrían rehacerse nuevamente los aglomerados quedando expuestos menos hidrogeniones, logrando valores inferiores de pH. Estos resultados se corresponden con lo planteado por Pang en 2008⁽²⁸⁾, donde se demostró que un campo magnético externo con intensidad inferior a 1 T, poseía efectos medibles en el agua, ya que causa cambios en la polarización de los átomos en la molécula, como consecuencia de los cambios en el momento dipolar, en el estado de transición de electrones y vibracional de la molécula de agua.

Por otro lado, en el 2006 Kai-Tai y Chan-I⁽²⁹⁾, con el uso de simulaciones de modelos dinámicos moleculares del agua, evaluaron los cambios estructurales inducidos por la aplicación de campos magnéticos con intensidades entre 1 y 10 T. Se encontró que el número de uniones de hidrógeno se incrementó a medida que aumentó la intensidad del campo magnético, por lo que el tamaño de los aglomerados podría ser controlado en función de la intensidad del campo magnético externo aplicado.

Las variaciones en la conductividad eléctrica indicaron que hasta ese tiempo el tratamiento magnético aplicado a la solución mantuvo sus efectos sobre la conductividad, con respecto a la solución que no se trató magnéticamente. También se mostraron diferencias en las condiciones aceleradas respecto a las de vida de estante. En las condiciones aceleradas, los valores de conductividad fueron superiores para la solución TM con respecto a la STM y a la misma solución TM evaluada en vida de estante, lo cual podría explicarse por los efectos diferenciados de la temperatura. Al aumentarse este parámetro podría incrementarse la movilidad iónica y por tanto la conductividad. Además, se adiciona la acción del campo magnético aplicado a la solución, el cual produce cambios en la movilidad de los iones y en su orientación.

Se podría plantear que las disminuciones y aumentos de la conductividad registradas en el tiempo de relajación magnética de la solución, en las condiciones evaluadas, podrían deberse a la inducción de cambios en la polaridad de las moléculas de agua. Esto, como consecuencia de los cambios en el momento dipolar, en el estado de transición de electrones y vibracional en la molécula⁽²⁸⁾. Estos efectos deben producir modificaciones en las interacciones ion dipolo que debe establecerse entre el dipolo del agua y los iones cloruro y sodio presentes en la solución. Estos tendrían menor movilidad e inducción de corriente eléctrica. Posteriormente, si se reorganizaran nuevamente los aglomerados que estructuran el agua, se favorecería la acción contraria en la movilidad de los iones, con un incremento de la conductividad debido al aumento en la movilidad de los transportadores de cargas. Este comportamiento podría explicarse porque la estructura del agua es dinámica, con la formación de aglomerados de diferentes tamaños.

El tiempo donde se mantienen los efectos del tratamiento magnético hasta que casi se iguala al comportamiento de la solución antes de su tratamiento, es denominado tiempo de relajación magnética. Esto es válido para cualquier sistema donde se aplica el tratamiento magnético. El tiempo de relajación puede ser medido por parámetros químico-físicos o biológicos, a través de ellos es posible evaluar el tiempo de relajación de un sistema tratado magnéticamente.

Las variaciones de la concentración del IFA y el preservio no superaron el 5 % con respecto a la cantidad inicial, por lo que se consideraron cambios no significativos derivados de las condiciones de almacenamiento estudiadas. Al mismo tiempo, se demostró la utilidad del sistema envase-cierre seleccionado para la solución, por lo que se podrían emplear ambos tipos de envase.

Por todo lo anterior se puede afirmar que el campo magnético no varió la composición química de la solución, demostrándose que durante el tiempo de relajación magnética (dos meses) se mantuvieron estables las propiedades físicas, químicas y microbiológicas.

Los resultados obtenidos en el conteo de leucocitos indicaron que la solución CM-95 pudo mantener los efectos del tratamiento magnético durante un tiempo de dos meses. Este efecto biológico está muy relacionado con la acción inmunomoduladora demostrada de la solución CM-95 tratada magnéticamente⁽⁷⁻¹²⁾. Como han planteado otros autores, el campo magnético puede lograr la inmunomodulación al iniciar esta con la activación de las células protagonistas de la respuesta inmune. En este caso estuvieron involucrados los linfocitos, monocitos/macrófagos y polimorfonucleares, quienes forman parte de los leucocitos sanguíneos^(30,31).

Agradecimientos

Agradecemos por su colaboración incondicional a la profesora Mirna Fernández Cervera, PhD y la recién graduada Ing. Leticia Yanet Góngora Baratute

BIBLIOGRAFÍA

1. Feight D, Baney T, Bruce S, McQuestion M. Evidence-Based Interventions for Radiation Dermatitis. *Clin J Oncol Nurs*. 2011; 15(5):481-492. DOI: 10.1188/11.CJON.481-492
2. McQuestion M. Evidence-based skin care management in radiation therapy: clinical update. *Semin Oncol Nurs*. 2011; 27(2):1-17. doi: 10.1016/j.soncn.2011.02.009.
3. Klassem VJ. Magnetización de sistemas acuosos. Moscú: Editorial Química; 1982. 22-28 p.
4. Zhadin MN. Review of Russian literature on Biological action of DC and low frequency AC magnetic field. *Bioelectromagnetics* 2001; 22 (1):27-45. DOI: 10.1002/1521-186x(200101)22:1<27::aid-bem4>3.0.co;2-2
5. Manni V, Antonella L, Pozzi P, Riete S, Serafino A, Grimaldi S. Effects extremely low frequency 50 Hz magnetic field on morphological and biochemical properties of human keratinocytes. *Bioelectromagnetics* 2002; 23 (4):298-315
6. Borroto V. Campos electromagnéticos pulsados y ozono en el tratamiento de la artrosis de rodilla en el adulto mayor. *Revista Española de Ozonoterapia*. 2016; 6(1): 27-393
7. Martínez CE, Portuondo I, Infante JF, Sierra G, Delgado L, Cobas G, "et al". Evaluación de la sustancia CM-95 tratada magnéticamente como inmunopotenciador con antígenos particulados en ratones de la línea Balb/c por vía intraperitoneal. *Vaccimonitor*. 1999; 8(11):2-6
8. Martínez CE, Cobas G, Lebeque Y, Fontaine R, Pérez I, Morris H, "et al". Evaluación de la sustancia CM-95 tratada magnéticamente como inmunopotenciador con antígenos de *Pseudomonas aeruginosa*. *Biotecnol. Apl.* 2003; 20(3):160-163
9. Martínez CE, Pérez I, Fontaine R, Morris H. Efectos de la Solución CM-95 tratada magnéticamente sobre células mononucleares en ratones Balb/c. *Biotecnol. Apl.* 2004; 21:224-228
10. Martínez M C, Tamayo O V, Sierra GG. Obtención del suero anti IgG humano con la solución CM-95 tratada magnéticamente como adyuvante inmunológico. *MEDISAN*. 2007;11(4)
11. Martínez CE, Toledano M, Rodríguez G, Keagne A, Iztiz L, Sierra G. Solución adyuvante CM-95 tratada magnéticamente en comparación con el adyuvante de Freund para la obtención del suero de Coombs en conejo. *Vaccimonitor*. 2009; 18(3):5-12
12. Martínez C, Tamayo V, Favier P, Castillo J, Hernández R, Sierra G. Efecto inmunomodulador de la solución CM-95 tratada magnéticamente en ratones Balb/c inoculados con 5-fluorouracilo. *VacciMonitor*. 2011; 20(1):13-21
13. Díaz J, Martínez CE, Alfonso A, Pardo AM, Esmérico J, Puente E, et al [CD-ROM]. Toxicidad aguda oral por el método de las clases de la solución CM-95 tratada magnéticamente en ratas Sprague Dawley. Santa Clara, Cuba, III Simposio Internacional de Química. 2007. ISBN 978-959-250-337-3.
14. Martínez CE, Díaz J, Alfonso A, Pardo AM, Betancourt JE, Puente E "et al". Toxicidad por dosis repetidas de la solución CM-95 tratada magnéticamente en ratas Sprague Dawley. *Vaccimonitor*. 2008; 17(2):25-34
15. Blanco M, Martínez CE, Blanco C. Empleo de imágenes en estado de relajación y una solución acuosa tratada magnéticamente para la psoriasis. *Revista Santiago. Especial*. 2011.
16. González F, Román A de la C, Martínez CE, Batuti M, Fernández I. Solución CM-95 tratada magnéticamente como profilaxis y terapia de la radiodermatitis en pacientes con cáncer. *MEDISAN* 2016; 20(11):5105
17. Román A de la C, Martínez CE, Vega NC, Ramírez IF. CM-95 Adjuvant solution magnetically treated as a complementary therapy for venous ulcer. Cases report. *Ann Vasc Med Res*. 2018; 5(2):1090
18. Centro Estatal para el Control de Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos (CECMED). Regulación 16/2012. Buenas Prácticas de Fabricación de Productos Farmacéuticos. La Habana, Cuba: Autor.
19. United States Pharmacopeia 40, National Formulary 35. Rockville, Md., USA. The United States Pharmacopeial Convention, Inc. 2017. (versión electrónica).
20. García GC, Campoverde CJ, Jaramillo JC. Control de calidad de Medicamentos VOL II. Primera Edición. Ediciones UTMACH. Universidad de Machala. Ecuador. 2015. ISBN978-9978-316-63-4. Disponible en: www.utmachala.edu.ec

21. Centro Estatal para el Control de Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos (CECMED). Anexo No.1/2014 de la Regulación 16/2012 de Buenas Prácticas para Laboratorios de Control de Medicamentos. Validación de Métodos Analíticos. La Habana, Cuba: Autor.
22. Centro Estatal para el Control de Medicamentos y Dispositivos Médicos (CECMED). Regulación 23/2000. Requerimientos de los estudios de estabilidad para el registro de productos farmacéuticos nuevos y conocidos. (CECMED). La Habana, Cuba: Autor.
23. Handbook of Pharmaceutical Excipients. Sodium benzoate. Sixth edition. Edited by Row R.C.; Sheskey P.J.; Quinn M. E. APhA. 2009, p. 627-629.
24. Handbook of Pharmaceutical Excipients. Citric Acid Monohydrate. Sixth edition. Edited by Row R.C.; Sheskey P.J.; Quinn M. E. APhA. 2009, p. 181-183.
25. British Pharmacopeia 2013. Monograph Medical and Pharmaceutical Substance: Sodium Chloride. Versión 17.0. Data © Crown Copyright 2012. (versión electrónica).
26. 16-National Research Council of the national Academics. Wide for the Care and use of animals laboratory. The national Academics Press Eighth Edition. Washington, D.C. 2010.
27. Colina JA, Álvarez RE, Cruz RC, Ballester JM. Laboratorio Clínico. La Habana: Cuba Editorial Pueblo y Educación; 1989. Tomo 1.
28. Pang X-F y Deng B. The changes of macroscopic features and microscopic structures of water under influence of magnetic field. *Physica B Condens Matter*. 2008; 403(19-20):3571- 3577
29. Chang KI, Weng CI. The effect of an external magnetic field on the structure of liquid water using molecular dynamics simulation. *J Appl Phys*. 2006; 100(4):043917
30. Petri AK, Schmiedchen K, Stunder D, Dechent D, Kraus T, Bailey WH, Driessen S. Biological effects of exposure to static electric fields in humans and vertebrates: a systematic review. *Environmental Health*. 2017;16 (1):41. doi: 10.1186/s12940-017-0248-y.
31. de Kleijn S, Ferwerda G, Wiese M, Trentelman J, Cuppen J, Kozicz T, de Jager L, Hermans PW, Verburg-van Kemenade BM. A Short-Term Extremely Low Frequency Electromagnetic Field Exposure Increases Circulating Leukocyte Numbers and Affects HPA-Axis Signaling in Mice. *Bioelectromagnetics*. 2016; 37(7):433-443. DOI: 10.1002/bem.21998