

Avances sobre la obtención de un producto de acción anabólica de un cultivo de *Paramecium Caudatum*

Javier Urrutia García

Doctor en Medicina, Licenciado en Biología e Investigador
del Centro de Investigaciones en Ciencias y Humanidades, CICH

drjavierurrutia@gmail.com

AKADEMOS es una revista semestral. De amplio espacio editorial, para la publicación de trabajos inéditos de investigación, artículos de análisis, reseñas y opinión, en los distintos tópicos de las ciencias, la tecnología, las artes y la cultura.

San Salvador, El Salvador, Centroamérica

Fecha de recepción 14/03/2019 • Fecha de aceptación 22/05/2019

Resumen

El presente trabajo pretende presentar un avance sobre la obtención de un producto de biosíntesis de un cultivo de *Paramecium caudatum*, su caracterización cristalográfica y su caracterización física.

Este trabajo hace referencia al procedimiento de colección de las muestras, el transporte, el cultivo, la identificación de la diversidad celular incluyendo a individuos del género *Paramecium*, su alimentación con *Sacharomyces cerevisiae*, el conteo diario del cultivo, su exposición a crioterapia, la obtención de la sustancia cristaloides, su caracterización cris-

talográfica, su caracterización física, y su caracterización química. Con cuyo proceso se pretende dejar establecido el método de obtención de una sustancia que por sus efectos pudiera desarrollarse como posible fármaco, dadas sus propiedades anabólicas en plantas y animales; el cual servirá como material de investigación en futuras pruebas biológicas.

La importancia del cultivo de *Paramecium caudatum*, se presentó en el antepasado congreso de investigación e innovación, donde se expuso la utilidad de la técnica de cultivo de *Paramecium caudatum* usando como alimento *Sacharomyces cerevisiae*. Mencionándose que dicho cultivo podía ser utilizado para

alimentar los alevines en los acuarios. En esta ocasión se destaca la importancia del cultivo de *Paramecium caudatum* como fuente de obtención de un principio activo obtenido por biosíntesis al someter dicho cultivo a un proceso de enfriamiento.

Palabras clave: biosíntesis, crioterapia, cultivo, punto de fusión, muestra cristalográfica, *Paramecium caudatum*, *Saccharomyces cerevisiae*, solubilidad.

Abstract

This paper aims to present an advance on obtaining a biosynthesis product of a crop of *Paramecium caudatum*, its crystallographic characterization and its physical characterization.

This work refers to the procedure of collection of samples, transport, cultivation, identification of cell diversity including individuals of the genus *Paramecium*, its feeding with *Saccharomyces cerevisiae*, the daily count of the crop, its exposure to cryotherapy, the obtaining of the crystalloid substance, its crystallographic characterization, its physical characterization, and its chemical characterization. With whose process it is intended to leave established the method of obtaining a substance that by its effects could be developed as a possible drug, given its anabolic properties in plants and animals; which will serve as research material in future biological tests.

The importance of the cultivation of *Paramecium caudatum*, was presented in the past

Congress of Research and Innovation, where it was exposed the usefulness of the technique of cultivation of *Paramecium caudatum* using as food *Saccharomyces cerevisiae*. Mentioning that this crop could be used to feed fingerlings in aquariums. This time highlights the importance of the cultivation of *Paramecium caudatum* as a source of obtaining an active ingredient obtained by biosynthesis by submitting the crop to a cooling process.

Key words: Biosynthesis, cryotherapy, crop, melting point, crystallographic sample, *Paramecium caudatum*, *Saccharomyces cerevisiae*, solubility.

Introducción

El oftalmólogo Dr. Vladimir Petrovich Filatov descubrió en 1922, que el enfriamiento de los tejidos producía una sustancia que él denominó bioestimulinas, estimulantes biogénos o biogénicos; particularmente usó los extractos hidrosolubles de *Aloe vera* “sábila” sometida a la oscuridad y almacenada a 4°C y los implantes subcutáneos de Placenta previamente sometida a enfriamiento; habiéndolo aplicado con éxito en muchas enfermedades, entre ellas: Queratitis herpética, Queratitis escrofulosa, Queratitis parenquimatosa, Queratitis tuberculosa y rosácea, Opacidad corneal y del humor vítreo, Degeneración pigmentaria de la retina, Miopía, Atrofia de los nervios ópticos de origen tabética, traumática, postinfecciosa y por alcohol metílico, Glaucoma, Lupus vulgar, Ulceraciones tuberculosas de la piel, Retracciones cicatriciales del esófago, Retracciones cicatriciales de la uretra, Que-

loides, Botón de oriente (Leishmaniasis cutánea), Lupus eritematoso, Esclerodermia, Psoriasis, Eczemas, Afecciones Inflammatorias del Sistema Nervioso periférico, Asma bronquial, Úlceras gástricas y duodenales, Anquilosis postraumáticas, Consolidación lenta de fracturas, Gangrena espontánea, Neuritis brucelosa, Gomas sifilíticas, Pelagra, Epilepsia, Esquizofrenia, Lepra, Tuberculosis pulmonar laríngea y cutánea, Úlceras tróficas, Endarteritis obliterante (gangrena espontánea del pie), Artropatías benignas, Artropatías malignas, Radiculitis, [1] [2] basado en él, el autor durante 30 años, ha sometido a enfriamiento tejidos comestibles observando que su ingesta ha estimulado los mecanismos de regeneración y defensa en todas las enfermedades degenerativas en las que se ha aplicado.

Con este trabajo se pretende obtener e identificar el principio activo que el autor relaciona con moléculas trifosforiladas, establecer el método de su obtención por biosíntesis de un cultivo de *Paramecium caudatum*. En el entendido que su producción masiva permitiría desarrollar futuras investigaciones; dado que se ha observado efecto anabólico en plantas y propiedades antitumorales en afecciones tumorales de la piel en peces (carpa dorada).

Objetivo General:

Obtener y caracterizar los estimulantes biógenos del Dr. Vladimir Filatov de un cultivo en masa de *Paramecium caudatum* usando como alimento *Sacharomyces cerevisiae*.

Objetivos específicos:

- Establecer el procedimiento para obtener por biosíntesis una sustancia cristaloidal de un cultivo de *Paramecium caudatum*.
- Hacer una descripción cristalográfica del principio activo.
- Determinar sus características fisicoquímicas (solubilidad y punto de fusión).

Metodología de la investigación

Tipo de Diseño de Investigación: Investigación Experimental o Investigación de Laboratorio (Investigación básica)

A. Cultivo de *Paramecium caudatum* usando como alimento *Sacharomyces cerevisiae*.

Se evalúa el crecimiento día a día hasta obtener un cultivo maduro al cabo de 8 días (Imagen 1) cuyo recuento diario se coloca en una tabla (Tabla 1) que se traduce en una curva de crecimiento poblacional. (Gráfica 1)¹

1 Patente en trámite con No de expediente 2011003998 y N° de Presentación 20110011584. Ponencia congreso de Investigación e Innovación. Universidad Evangélica. Julio de 2011

Imagen 1: Cultivo de *Paramecium Caudatum*



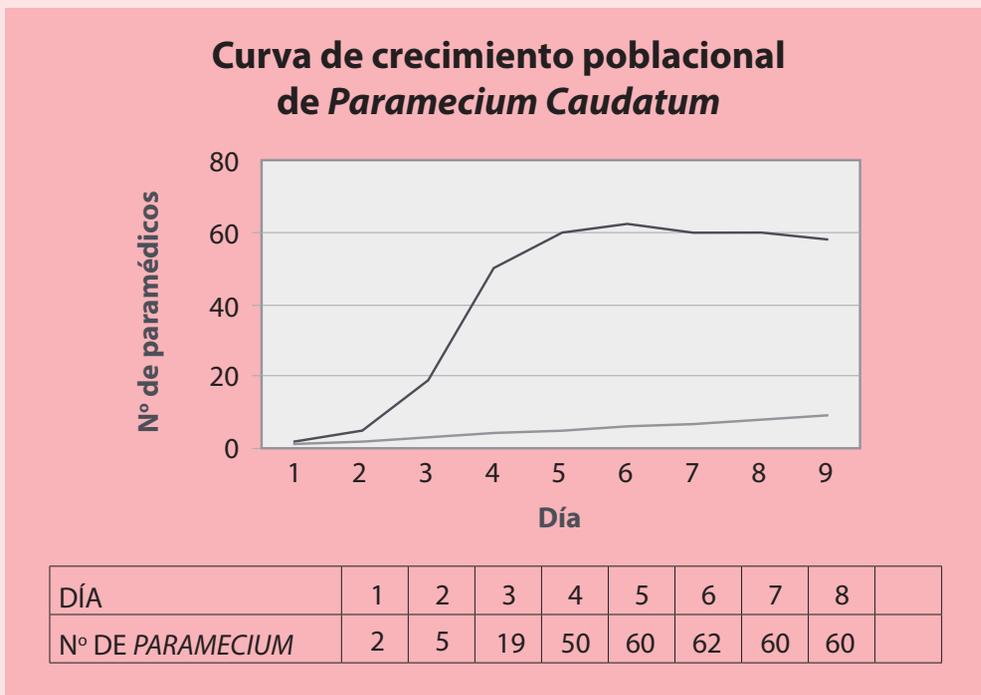
Fuente: Imagen propia

Tabla 1: Crecimiento poblacional de *Paramecium Caudatum*

DIA	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Nº	2	5	19	50	60	62	60	60	58

Fuente: Elaboración propia

Gráfica 1: Curva de crecimiento



Fuente: Elaboración propia

B. Crioterapia del cultivo

El cultivo maduro se sometió a un proceso de congelación lenta con el objetivo de obtener el principio activo a estudiar, partiendo del supuesto que todo tejido vivo al ser sometido a un proceso de congelación lenta produce una sustancia, que el Dr. Vla-

dimir Petrovich Filatov llamó estimulantes biógenos y que el autor de esta investigación postula corresponde a moléculas trifosforiladas.² Tras cuyo proceso se sometió a ebullición con el fin de esterilizar el cultivo, se coló, se filtró y se guardó en refrigeración hasta obtener el principio activo en forma de cristal.

2 La crioterapia de los alimentos, es una patente en trámite con el nombre "Proceso de transformación de la glucosa en los tejidos vegetales y animales comestibles y su uso para el tratamiento en enfermedades degenerativas. Con N° de expediente 2011004064 N° de presentación 20110012133.

C. Caracterización de la sustancia producida por el cultivo de *Paramecium caudatum* (información para 3ª patente)

C.1 Caracterización cristalográfica³

Imagen 2

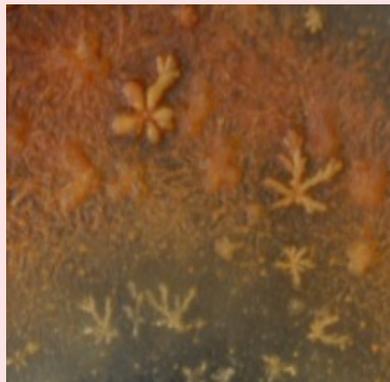


Imagen 3

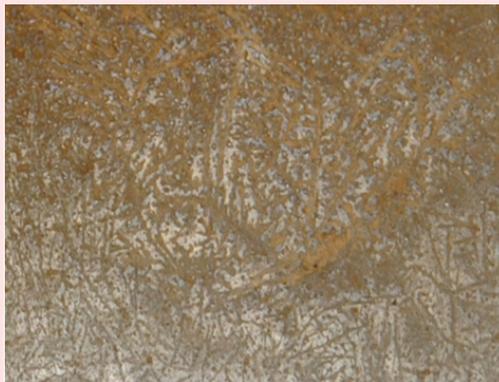
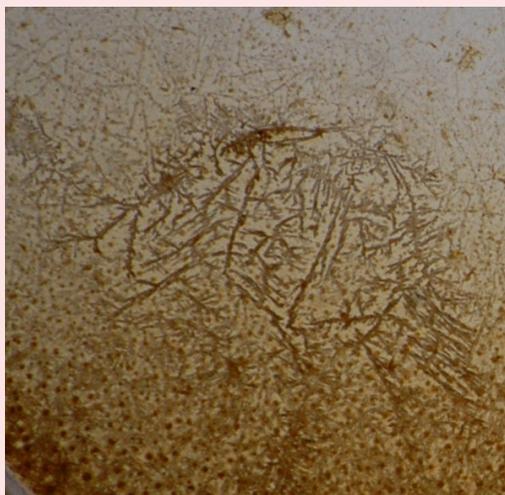


Imagen 4



³ Según Eduardo Camporeales, químico de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad Nacional usando como referencia los anales cristalográficos de la Unión Soviética reportó la sustancia como nueva para la Ciencia.

C2. Caracterización química

C2.1 Solubilidad: La sustancia es soluble en agua y etanol

C2.2 Determinación de punto de fusión de una sustancia obtenida por biosíntesis de un cultivo de *Paramecium caudatum*.⁴

Procedimiento

Se determinó usar los aparatos Melting point para determinar punto de fusión.

Se seleccionó un primer Melting Point Modelo SMP11 para capilares.

Se le colocó un termómetro de 400° C. (Imagen 5)

Imagen 5



Fuente: Imagen propia

Se tomó una pequeña muestra en vidrio de reloj. (Imagen 6)

Se tomó un capilar, el cual se cerró a la llama en un extremo. (Imagen 7)

4 Prueba ejecutada bajo asesoría y supervisión del Técnico Jaime González el día martes 7 de mayo de 2013, en el departamento de Química Orgánica de la Facultad de Química y Farmacia. Universidad Nacional de El Salvador.

Imagen 6



Imagen 7



Fuente: Imágenes propia.

Se tomó una pizca de la sustancia con un agitador de vidrio.

Se colocó una pequeña cantidad en el extremo abierto del capilar. La cual dada la consistencia pegajosa de la sustancia no se pudo

introducir al capilar por lo cual se descartó este modelo de aparato.

Se seleccionó un segundo modelo de aparato Melting Point modelo Fisher Jomhs que usa cubre objetos circulares. (Imagen 8)

Imagen 8



Fuente: Imagen propia.

Se colocó el termómetro en su lugar respectivo (Imagen 8)

Se colocó una pizca de la sustancia en el centro del cubreobjeto circular de vidrio.

El cubreobjeto se colocó en el punto de colocación de la muestra según señala la flecha. (Imagen 8)

Se inicia aplicación de calor a la sustancia cristaloides color café.

Se sube gradualmente la temperatura conforme indicaciones. “Un incremento de una graduación cada minuto, a repetirse cuando el termómetro sube 20 grados centígrados”. Observándose cualquier posible cambio a través de una lupa manual. (Imagen 9)

Imagen 9

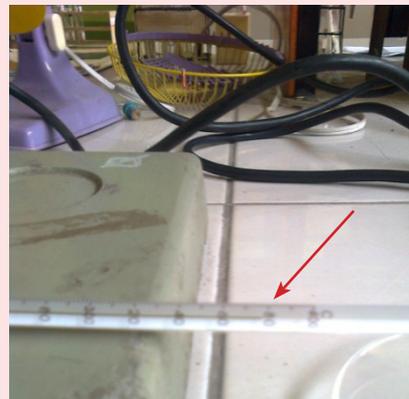


Fuente: Imagen propia.

Imagen 10



Imagen 11



Fuente: Imágenes propias.

Se observó que al alcanzar los 220 ° C. la sustancia cambió de color café a color negro. (Imagen 10)

Se continúan los incrementos de temperatura hasta alcanzar los 380° C. cuando se finaliza por el límite de resistencia del termómetro, la sustancia no fundió a 380° C. (Imagen 11)

En consulta con el Dr. Reyes de ICDE recomendó se le hiciera unas pruebas a las muestras para punto de fusión por calorimetría diferencial de barrido y cuyo resultado se describe a continuación.

metría diferencial de barrido y cuyo resultado se describe a continuación.

Imagen 12



Instituto Científico de Desarrollo Empresarial
Investigación, Desarrollo, Innovación

LABORATORIO DE ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO
Col. Miramonte Pte., Av. B, No 335
San Salvador, El Salvador
Tel. (503)2260-4384
laboratorio@icde-idi.com

San Salvador, 18 de Noviembre de 2013

Dr. Javier Urrutia García
Universidad Dr. José Matías Delgado

Apreciable Dr. Urrutia:

Por medio de la presente le informamos de los resultados obtenidos en la caracterización de la muestra de Extracto de Protozoarios, utilizando la técnica de Calorimetría Diferencial de Barrido, (DSC).

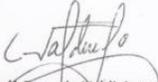
Los resultados muestran que el extracto etiquetado como Muestra UJMD presenta la transición vítrea aproximadamente a 40°C; no se observa señal debida a la cristalinización de la muestra, sin embargo, presenta una temperatura de fusión de 127.65°C (Extrapol. Peak). Posteriormente se observan picos exotérmicos de descomposición a 362.68°C y a 396.26°C

Los parámetros del análisis por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) fueron los siguientes:

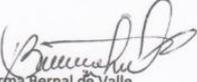
Cantidad pesada de muestra:	7.00 mg
Intervalo de calentamiento:	25.0°C - 500.0°C
Rapidez de calentamiento:	10.0°C / min
Modo:	Exotérmico

En una caracterización visual, la muestra se describe como un sólido color café, sin olor característico, contenida en un recipiente abierto hecho de vidrio.

Sin otro particular nos despedimos atentamente,



Raúl Gerardo Valdivieso
Jefe de Laboratorio
Laboratorio de Análisis Físico-Químico
ICDE, S.A de C.V.



Norma Bernal de Valle
Aseguramiento de la Calidad
Laboratorio de Análisis Físico-Químico
ICDE, S.A. de C.V.



Instituto Científico de Desarrollo Empresarial
Investigación, Desarrollo e Innovación

República de El Salvador
D.N.M.
LAB. DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO DEL INS.
CIENTÍFICO DE DESARROLLO EMPRESARIAL (ICDE)
No. Inscrip. 5
Prop. Lic. Rodrigo Antonio Reyes Gómez
San Salvador San Salvador

Lic. NORMA CAROLINA BERNAL DE VALLE
QUÍMICO FARMACÉUTICO
Insc. J.V.P.Q.F. No. 1744

LABORATORIO ACREDITADO POR EL ORGANISMO SALVADOREÑO DE ACREDITACIÓN, BAJO NORMA ISO/IEC 17025:2005 PARA REALIZAR PRUEBAS ESPECÍFICAS EN MEDICAMENTOS DE ACUERDO AL ALCANCE DEL REGISTRO N° LEA-02-12.

Imagen 13

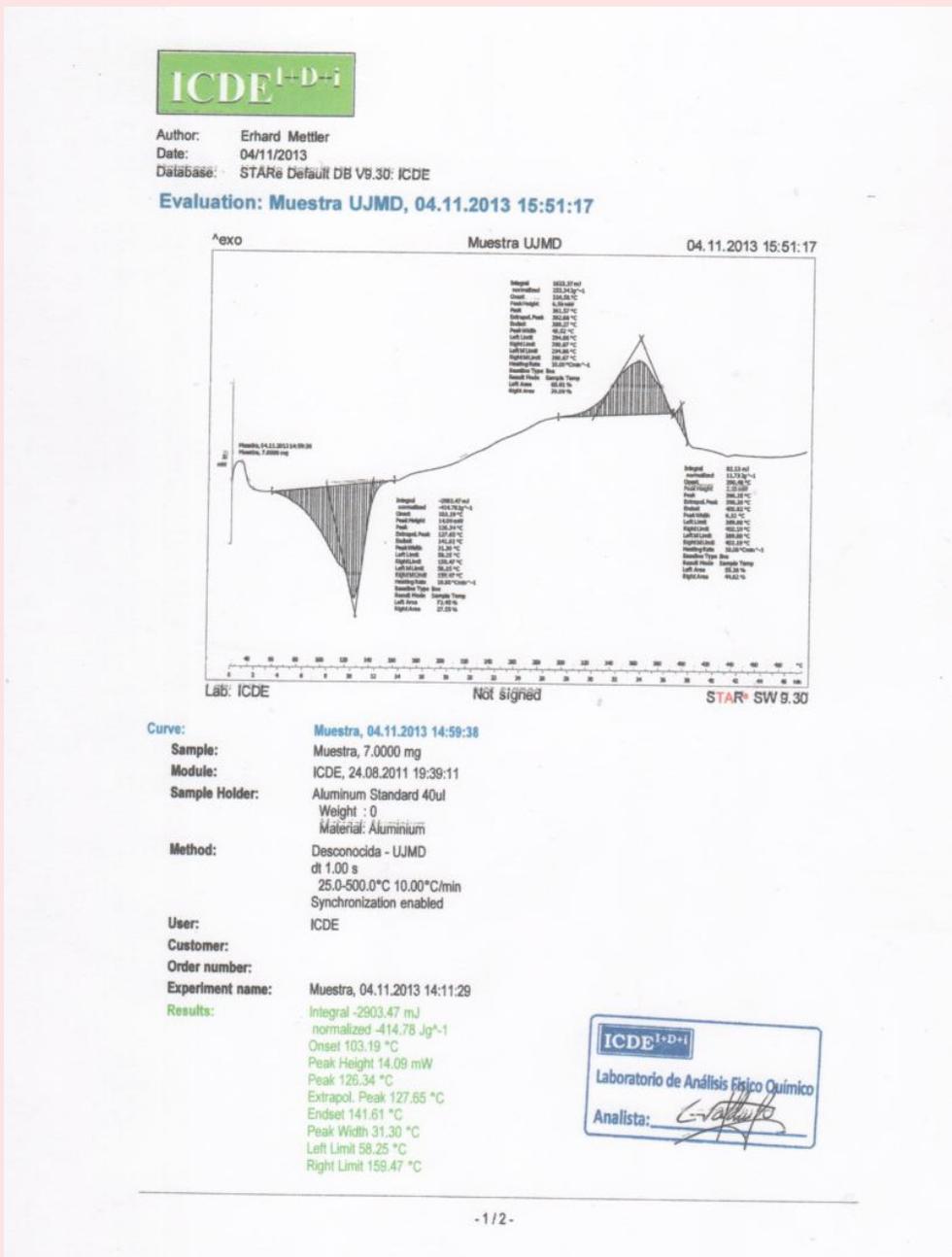


Imagen 14



Author: Erhard Mettler
 Date: 04/11/2013
 Database: STARe Default DB V9.30: ICDE

Left bi Limit 58.25 °C
 Right bi Limit 159.47 °C
 Heating Rate 10.00 °Cmin⁻¹
 Baseline Type line
 Result Mode Sample Temp
 Left Area 72.45 %
 Right Area 27.55 %

Integral 1633.37 mJ
 normalized 233.34 Jg⁻¹
 Onset 324.58 °C
 Peak Height 6.59 mW
 Peak 361.57 °C
 Extrapol. Peak 362.68 °C
 Endset 388.27 °C
 Peak Width 40.52 °C
 Left Limit 294.86 °C
 Right Limit 390.67 °C
 Left bi Limit 294.86 °C
 Right bi Limit 390.67 °C
 Heating Rate 10.00 °Cmin⁻¹
 Baseline Type line
 Result Mode Sample Temp
 Left Area 60.91 %
 Right Area 39.09 %

Integral 82.13 mJ
 normalized 11.73 Jg⁻¹
 Onset 390.48 °C
 Peak Height 2.10 mW
 Peak 396.35 °C
 Extrapol. Peak 396.26 °C
 Endset 400.82 °C
 Peak Width 6.32 °C
 Left Limit 389.88 °C
 Right Limit 402.19 °C
 Left bi Limit 389.88 °C
 Right bi Limit 402.19 °C
 Heating Rate 10.00 °Cmin⁻¹
 Baseline Type line
 Result Mode Sample Temp
 Left Area 55.38 %
 Right Area 44.62 %

ICDE I-D-i
 Laboratorio de Análisis Físico Químico
 Analista: 

C. Caracterización de sus efectos biológicos en plantas y animales (En proceso de documentación)

Estimula el crecimiento de raíces y falso tallo en bulbos de *Allium cepa* [3]

Involuciona tumores en carpa dorada [4]

Estimula el crecimiento de hongos patógenos humanos. [5]

Combinado con Tripticasa soya agar (TSA) crecen *Epidermophyton floccosum*, *trichophyton rubrum* y *Nocardia*

Imagen 15



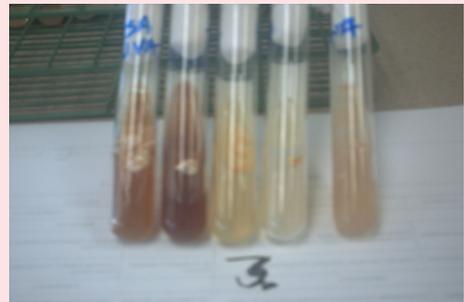
Imagen: 16



Imagen 17



Imagen 18



Fuente: Imágenes propias

En cuya solución por contener energía química crecen los hongos ambientales *Rhizopus*, *Penicilium* y *Fusarium*

Imagen 19



Fuente: Imágen propia

Análisis y discusión de resultados

Cultivo de *Paramecium caudatum* usando como alimento *Sacharomyces cerevisiae*. Patente N° de expediente 2011003998. N° de Presentación 20110011584. (Se halla en estudio de fondo en CNR en México)

Crioterapia del Cultivo en masa del protozoo de vida libre *Paramecium caudatum*. El cultivo se somete a congelación lenta para hacer producir el principio activo por enfriamiento, como comprobación de la patente en trámite “Proceso de transformación de la glucosa en los tejidos vegetales y animales comestibles y su uso para el tratamiento en enfermedades degenerativas”. N° de expediente 2011004064 N° de presentación 20110012133. La cual ha finalizado la fase

nacional, hallándose en estudio de fondo en CNR de México.

Se ha caracterizado la sustancia producida por el cultivo de *Paramecium caudatum* al ser sometido a congelación lenta (El presente trabajo pretende recopilar información para documentar la obtención del principio activo de la segunda patente y que servirá como patente complementaria)

La caracterización cristalográfica según reporta el Lic. Eduardo Camporeales (1974) la sustancia es nueva para la ciencia. [6]

En cuanto a la caracterización química se han comprobado los análisis efectuados por el Lic. Camporeales en el mismo año, en cuanto a su solubilidad en agua y etanol. En esa misma ocasión reportó su punto

de fusión, como indeterminado, porque a 375 ° C la sustancia no funde, sino que antes bien se descompuso. La presente comprobación mostró que a 220° C cambia a color negro, y al alcanzar los 380° C cuando se finaliza la determinación del punto de fusión, por haberse llegado al límite de resistencia del termómetro, la sustancia no funde, expresándose que la sustancia obtenida por biosíntesis de *Paramecium caudatum* es termoestable con punto de fusión alto e indeterminado. Se halla pendiente espectrofotometría infrarroja y espectrofotometría de masas.

Por las características físicas de la sustancia cristaloides obtenida por biosíntesis de *Paramecium caudatum* se determinó que por el momento el aparato recomendado para determinar el punto de fusión es el aparato Melting point modelo Fisher Jomhs que usa cubreobjetos circulares.

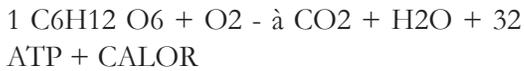
Conclusiones

1. Es posible obtener una sustancia cristaloides por biosíntesis de un cultivo en masa de protozoarios de vida libre de la especie *Paramecium caudatum* al someterlo a cero grados centígrados.
2. Dicha sustancia cristalográficamente tiene forma de helecho o líquen costroso.
3. La sustancia es soluble en agua y etanol.
4. La sustancia cristaloides cambia de color a 220° C según calorímetro capilar y de cubreobjeto.
5. A 380° C la sustancia no funde según calorímetro capilar y de cubreobjeto.
6. La sustancia tiene un punto de fusión indeterminado según calorímetro capilar y de cubreobjeto.
7. La sustancia obtenida de *Paramecium caudatum* y *Sacharomyces cerevisiae* usando calorimetría diferencial tiene punto de fusión de 127.65° C y dos puntos exotérmicos DE 362.68° C y 396.26° C lo que indica que es una mezcla, siendo la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Nacional de El Salvador que reporta el cristal como nuevo para la ciencia según estudio comparativo en los anales cristalográficos de la antigua Unión Soviética efectuado por el Licenciado Eduardo Camporeales.
8. Aplicando ese método a seres vivos comestibles plantas y animales se establece la base terapéutica para el tratamiento de enfermedades degenerativas. (La Tisuloterapia o Tisulocrioterapia)
9. A instancias de la Licenciada Ana Lilian Ramírez de Bello Suazo que recomendó que se escribieran todo lo observado a la fecha, impulsó a registrar los resultados traducidos a una teoría elaborada a partir de esas experiencias como es “La Teoría sobre el origen de la salud celular” la cual se inscribió como propiedad intelectual en el Centro Nacional de Registro y que dice así:

Postulado n° 1

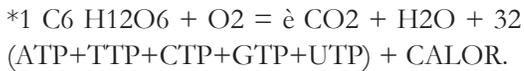
Todo organismo vivo unicelular o pluricelular, vegetal o animal, comestible o no comestible, al exponerse a un enfriamiento entre cero y cuatro grados centígrados, presenta como respuesta bioquímica, la

producción de calor como mecanismo de respuesta al frío.



Postulado n° 2

Paralelo al proceso de producción de calor, dicho organismo produce un pool de moléculas trifosforiladas (que pueden ser ATP-CTP-GTP-TTP-UTP) que corresponden a las bases adenina, citosina, guanina, timina y uracilo.



Postulado n° 3

Las moléculas trifosforiladas se depositan a nivel intracelular y se conservan en él organismo aún después de su muerte.

*La respuesta física al frío es la muerte celular por formación de grandes cristales intracelulares y extracelulares.

Postulado n° 4

El pool de moléculas trifosforiladas (ATP, TTP, CTP, GTP Y UTP) corresponde a los estimulantes biógenos del Doctor Vladimir Petrovich Filatov (Por la glicólisis anaeróbica que se da en los tejidos anóxicos).

Postulado n° 5

Si los organismos sometidos a congelación son utilizados como alimento, por contener

moléculas trifosforiladas en sus tejidos, desencadenan en el organismo que los ingiere, reacciones anabólicas selectivas según los particulares requerimientos.

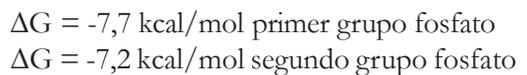
Por un principio bioquímico que dice una carga energética alta bloquea las rutas productoras de energía (catabolia) y estimula las rutas utilizadoras de la energía (anabolía).

Postulado n° 6

El pool de moléculas trifosforiladas se utiliza en el transporte activo, en la síntesis de moléculas estructurales y funcionales y en el trabajo mecánico como contracción muscular, procesos de fagocitosis, pinocitosis... etc. esto es anabolía

Postulado n° 7

La mayor eficiencia de los procesos anabólicos mencionados anteriormente requiere el suministro de catalizadores enzimáticos como zinc (Zn), magnesio (Mg) y manganeso (Mn) que aceleran la liberación de la energía contenida en las moléculas trifosforiladas.



Postulado n° 8

En el proceso terapéutico es complementario el suministro de las vitaminas del complejo b por su papel en la formación de las coenzimas.

Referencias bibliográficas

- Camporeales Eduardo 1974. Facultad de Química y Farmacia. Universidad Nacional de El Salvador. El Salvador Centroamérica.
- Filatov Vladimir Petrovich. 1956. La Tisuloterapia, Ediciones en Lenguas extranjeras Moscú. Copia suministrada por la UNAM México. Biblioteca personal.
- Filatov Vladimir Petrovich 1956. Mi camino en la Ciencia. Ediciones en Lenguas extranjeras Moscú. Biblioteca personal.
- Urrutia García Javier. 1975 Efecto de un producto de biosíntesis de un cultivo de *Paramecium caudatum* sometido a congelación lenta en bulbos de *Allium cepa* Departamento de Biología. Universidad Nacional de El Salvador. El Salvador Centroamérica. (No publicado)
- Urrutia García Javier 1978 Efecto de un producto de biosíntesis de un cultivo de *Paramecium caudatum* sometido a congelación en tumores de piel en carpa dorada Dirección de Patrimonio natural. Ministerio de Educación. (No publicado)
- Urrutia García Javier 2012. Observaciones del efecto de un extracto de frutas sometidas a congelación lenta en el crecimiento de hongos patógenos. Departamento de Microbiología. Centro de Investigaciones en Ciencias y Humanidades. Universidad Dr. José Matías Delgado. El Salvador Centroamérica.

