

# EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTICOAGULANTE DE ALGAS MARINAS PRESENTES EN LAS COSTAS DEL GOLFO DE MÉXICO Y CARIBE MEXICANO

*Evaluation of the Anticoagulant Activity of Seaweeds from the Gulf of Mexico and Caribbean Coast*

Graciela De Lara-Isassi<sup>1</sup> y Sergio Álvarez Hernández<sup>1</sup>.

## RESUMEN

Se utilizaron pruebas estandarizadas de coagulación de plasma humano (tiempo de trombina y tiempo de protrombina) con el propósito de investigar las propiedades anticoagulantes de extractos fisiológicos de 49 especies de macroalgas marinas presentes en las costas del Atlántico mexicano, se encontró, en ocho de ellas, actividad anticoagulante con potencia similar a la de la heparina. Los extractos ejercieron su actividad en la fase final de la cascada de coagulación, fundamentalmente en la conversión de fibrinógeno en fibrina por acción de la trombina, en alguna de sus dos vías. En la vía intrínseca de la coagulación actuaron las algas de la División Rhodophyta: *Gracilaria cervicornis*, *Grateloupia doryphora*, *Grateloupia filicina*. En la vía extrínseca se reporta la actividad de *Caulerpa cupressoides*, *Penicillus capitatus* y *Udotea flabellum* (Chlorophyta); *Sargassum vulgare* (Phaeophyta) y *Pterocladia capillacea* (Rhodophyta). Ninguna de las algas investigadas presentó actividad en ambas pruebas. Se reporta por primera vez la actividad anticoagulante de estas especies algales, a excepción de *Pterocladia capillacea*.

**Palabras clave:** actividad anticoagulante, Atlántico mexicano, heparina, macroalgas marinas.

## ABSTRACT

Standard clotting tests (thrombin and prothrombin time) of human normal plasma were used in order to know the anticoagulant properties of marine algal physiologic extracts, of 49 species collected off the Mexican Atlantic coast. The extracts of eight algae showed anticoagulant activity similar to heparin. These extracts acted in the final step of coagulation cascade, particularly in the conversion of fibrinogen to fibrin by thrombin in some of the two ways. Intrinsic way was affected by the extracts of *Gracilaria cervicornis*, *Grateloupia doryphora*, *Grateloupia filicina* (Rhodophyta). The extracts of *Caulerpa cupressoides*, *Penicillus capitatus* and *Udotea flabellum* (Chlorophyta); *Sargassum vulgare* (Phaeophyta) and *Pterocladia capillacea* (Rhodophyta) were active in the extrinsic way. None of the algae studied showed anticoagulant activity in both tests. This is the first report of the anticoagulant activity of these species, the only one previously reported is *Pterocladia capillacea*.

**Key words:** anticoagulant activity, heparin, marine seaweeds, Mexican Atlantic.

## Introducción

Los anticoagulantes han sido ampliamente utilizados en la terapia médica, en el tratamiento de los desórdenes tromboembólicos, debido a que previenen la deposición de nuevos trombos, aunque no remuevan el

1. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Departamento de Hidrobiología. Laboratorio de Ficología Aplicada. Apartado Postal 55-535. México, D. F., 09340.

coágulo. El primer anticoagulante de origen natural fue descubierto por McLean en 1916 (citado por Howell, 1922) y debido a su abundancia en el hígado Howell en 1922 lo denominó heparina, esta molécula es un glicosaminoglucano altamente sulfatado que se ha obtenido también de la mucosa intestinal porcina o del pulmón bovino (Olson *et al.*, 1993). La heparina ha sido usada cotidianamente en medicina y en el

diagnóstico clínico como referencia para determinar las actividades anticoagulantes y antilipémicas de polisacáridos de origen diverso.

Los primeros estudios sobre la actividad anticoagulante de las algas marinas se realizaron utilizando polisacáridos como los alginatos y las carrageninas (Elsner *et al.*, 1937). Los polisacáridos algales difieren de la heparina porque no contienen grupos N-sulfato, algunos de ellos sin embargo, pueden contener grupos O-sulfato y algunos no presentan sulfatos. Los polisacáridos sulfatados que se presentan en las macroalgas difieren en las tres Divisiones algales, en las clorofitas se presentan glucuronoxylorhamanos, glucuronoxylorhamanogalactanos o xyloarabinogalactanos sulfatados (Percival, 1979); en las feofitas se presentan el alginato heteropolímero de los ácidos urónicos D-manurónico y L-gulurónico (Larsen, 1978) y un grupo de glucuronoxylufucanos denominados fucoidano y ascophylano, construido con unidades de fucosa sulfatada, xilosa y ácido glucurónico (McCandless, 1981). Las rodofitas poseen sulfatos de galactano, denominados carragenanos y agar, el primero está compuesto de unidades de D-galactosa con diferentes proporciones de grupos sulfato, el segundo está constituido por unidades repetidas de agarosa y agarpectina en diferentes proporciones (Craigie y Leigh, 1978).

Se ha investigado la posibilidad de utilizar los polisacáridos de las macroalgas marinas como anticoagulantes, sin embargo, los polisacáridos de las algas de la División Phaeophyta tiene una ligera actividad anticoagulante, menos efectiva que la heparina; además poseen cierta toxicidad por lo cual no es recomendable su uso (Adams *et al.*, 1962; Bernardi y Springer, 1962; Constantinides *et al.*, 1954; Elsner *et al.*, 1937; Hawkins y Leonard, 1958). Solamente los fucoidanos sulfatados del alga *Ecklonia kurome* Okamura han demostrado ser un excelente anticoagulante con iguales propiedades que la heparina (Nishino y Nagumo, 1987, 1991 y 1992; Nishino *et al.*, 1989).

Chargaff *et al.* en 1936 realizaron la primera prueba utilizando agar, polisacárido altamente sulfatado extraído de algas de la División Rhodophyta, como anticoagulante con resultados inciertos. Posteriormente se encontró que éste posee una escasa actividad, siendo de una centésima de la actividad de la heparina (Elsner *et al.*, 1937; Elsner, 1938). Con referencia a los carragenanos de algas de esta División, se ha

comprobado que son potentes anticoagulantes, aunque su toxicidad aumenta cuando poseen un mayor peso molecular (Anderson y Duncan, 1965; Anderson, 1967).

En referencia a la actividad anticoagulante de macroalgas de la División Chlorophyta, destacan los trabajos de Deacon-Smith y Rogers (1982) y Deacon-Smith *et al.*, (1985 a y b) donde se analizaron extractos algales obtenidos con solución amortiguadora y por medio de pruebas estandarizadas de coagulación de plasma humano se investigó su actividad. Sus resultados demostraron la potente actividad anticoagulante del extracto de *Codium fragile* (Sur.) Harriot. Siguiendo esta misma línea de investigación, De Lara-Issasi y Alvarez-Hernández (1995) encontraron actividad anticoagulante similar a la de la heparina en el extracto de otra clorofita, *Halimeda discoidea* Decaisne, poniendo en evidencia que las algas de esta División pueden ser fuente de sustancias con actividad anticoagulante

El objetivo de este trabajo fue el del investigar las propiedades anticoagulantes de extractos de macroalgas marinas recolectadas en varias localidades del Atlántico mexicano, para conocer su potencialidad como fuente de sustancias anticoagulantes, ya que los estudios hechos en este campo son muy escasos y aun mas, los que se refieren a la actividad de especies colectadas en las costas mexicanas, teniendo el recurso ficológico de nuestro país un gran potencial de sustancias con actividad biológica diversa.

## Materiales y métodos

Las especies algales analizadas fueron recolectadas en siete campañas de muestreo entre 1993 y 1995. En tres de ellas la colecta se llevó a cabo durante el verano, las otras cuatro se llevaron a cabo en los meses de febrero, marzo, abril y noviembre. Con excepción de 1995, año en el cual se hicieron dos muestreos, las campañas se ejecutaron con una frecuencia anual. Las algas fueron extraídas manualmente o con la ayuda de una espátula de la franja intermareal rocosa y submareal (Puerto Morelos, Quintana Roo) en 15 localidades ubicadas en cuatro estados del Atlántico mexicano (Figura 1). Se colectó un total de 49 especies, de las cuales nueve pertenecen a la División Chlorophyta, 13 a la División Phaeophyta y 27 a la División Rhodophyta (Tabla 1).

Una vez colectado, el material ficológico se lavó con agua de mar para eliminar arena, organismos asocia-



Figura 1. Mapa de localización de las áreas de colecta

dos a las plantas y cualquier residuo inorgánico, después se separó por géneros, se colocó en bolsas de plástico y se congeló hasta su procesamiento. Ya descongelado, parte del material se conservó en formalina al 4 % glicerinada para su posterior identificación taxonómica. El resto se lavó en agua corriente y bajo el microscopio se liberó de epífitas y de la mesofauna remanente.

Los extractos se obtuvieron macerando en un mortero 10 g de biomasa algal con 10 ml de solución amortiguadora de fosfatos 100 mM a pH 7.2. El homogeneizado se centrifugó 15 min a 1000  $xg$  y el sobrenadante se filtró en un equipo Millipore® con filtros de nitrocelulosa de 22  $\mu m$ . Los extractos obtenidos se guardaron a -20 °C hasta que se llevó a cabo su análisis (Deacon-Smith *et al.*, 1985b).

El plasma usado en la evaluación de actividad anticoagulante se obtuvo mediante venipuntura empleando jeringas desechables de polipropileno y citrato de sodio al 3.2 % como anticoagulante. Nueve

ml de sangre se mezclaron con un ml de citrato de sodio e inmediatamente después se centrifugó la muestra a 300  $xg$  durante 15 min. El plasma fue recolectado y congelado hasta su utilización.

La actividad anticoagulante de los extractos se demostró mediante el empleo de dos pruebas estandarizadas de coagulación de plasma humano: el tiempo de trombina (Pitney y Dacie, 1953) y el tiempo de protombina (Quick, 1945). El tiempo de trombina se midió añadiendo a un tubo de ensaye 0.2 ml de las siguientes soluciones en un orden sucesivo: plasma, extracto algal, trombina (4 U.I  $ml^{-1}$ ) y cloruro de calcio 0.2 M. Para el tiempo de protombina se sustituyó la trombina por tromboplastina. En ambos casos la solución final se agitó suavemente y se incubó durante 60 segundos a 36 °C, observándose y registrándose el tiempo en el que se llevaba a cabo la formación del coágulo. Todas las pruebas se efectuaron por duplicado y se promediaron sus resultados, cuando la discrepancia entre ambas pruebas fue mayor al 5 %, se

Tabla 1. Especies evaluadas como fuente de sustancias con actividad anticoagulante.

| DIVISIÓN CHLOROPHYTA   | FECHA   | LOCALIDAD            | ESTADO       |
|--|---------|----------------------|--------------|
| <i>Caulerpa cupressoides</i> (West in Vahl) C. Agardh                                  | 8/1995  | Puerto Morelos       | Quintana Roo |
| <i>Chaetomorpha antennina</i> (Bory) Kützing 2   | 6/1994  | La Pesca             | Tamaulipas   |
| <i>Cladophora sericea</i> (Hudson) Kützing   | 7/1993  | Costa de Oro         | Veracruz     |
| <i>Cymopolia barbata</i> (Linnaeus) Lamouroux  | 7/1993  | La Mancha            | Veracruz     |
| <i>Enteromorpha intestinalis</i> (Linnaeus) Nees 1,2                                   | 6/1994  | La Pesca             | Tamaulipas   |
| <i>Penicillus capitatus</i> Lamarck  | 8/1995  | Puerto Morelos       | Quintana Roo |
| <i>Udotea flabellum</i> (Ellis & Solander) Lamouroux 3                                 | 8/1995  | Puerto Morelos       | Quintana Roo |
| <i>Ulva fasciata</i> Delile 1, 3   | 6/1994  | Escollera de Tampico | Tamaulipas   |
| <i>Ulva lactuca</i> Linnaeus 2   | 7/1993  | Costa de Oro         | Veracruz     |
| DIVISIÓN PHAEOPHYTA  |         |                      |              |
| <i>Chnospora minima</i> (Hering) Papenfus 1, 2   | 7/1993  | Boca Andrea          | Veracruz     |
| <i>Colpomenia sinuosa</i> (Merten ex Roth) Derbès & Solier                             | 7/1993  | Punta Delgada        | Veracruz     |
| <i>Dictyota bartayresiana</i> Lamouroux 3  | 11/1994 | Puerto Morelos       | Quintana Roo |
| <i>Dictyota cervicornis</i> Kützing 3  | 8/1995  | Puerto Morelos       | Quintana Roo |
| <i>Hinckesia breviarticulata</i> (J. Agardh) Silva                                     | 7/1993  | Punta La Litera      | Veracruz     |
| <i>Lobophora variegata</i> (Lamouroux) Womersley 1                                     | 4/1995  | Puerto Morelos       | Quintana Roo |
| <i>Padina boergesenii</i> Allender & Kraft 1   | 7/1993  | Punta La Litera      | Veracruz     |
| <i>Sargassum cymosum</i> C. Agardh   | 3/1993  | La Pesca             | Tamaulipas   |
| <i>Sargassum filipendula</i> C. Agardh 3   | 6/1994  | Barra del Tordo      | Tamaulipas   |
| <i>Sargassum pteropleuron</i> Grunow 3   | 3/1993  | La Pesca             | Tamaulipas   |
| <i>Sargassum vulgare</i> C. Agardh 1   | 6/1994  | Barra de Corazones   | Veracruz     |
| <i>Spatoglossum schroederi</i> (C. Agardh) Kützing                                     | 6/1994  | La Pesca             | Tamaulipas   |
| <i>Turbinaria tricolorata</i> Barton 3   | 11/1994 | Tulum                | Quintana Roo |
| DIVISIÓN RHODOPHYTA  |         |                      |              |
| <i>Acanthophora spicifera</i> (Vahl) Børgesen  | 8/1995  | Puerto Morelos       | Quintana Roo |
| <i>Bryocladia cuspidata</i> (J. Agardh) De Toni  | 6/1994  | Escollera de Tuxpan  | Veracruz     |
| <i>Bryocladia thyrsgera</i> (J. Agardh) Schmitz in Falkenberg                          | 7/1993  | Costa de Oro         | Veracruz     |
| <i>Bryothamnion triquetrum</i> (Gmelin) Howe 1   | 11/1994 | Puerto Morelos       | Quintana Roo |
| <i>Centroceras clavulatum</i> (C. Agardh in Kunth) Montagne in Durieu de Maisonneuve 1 | 7/1993  | Punta Delgada        | Veracruz     |
| <i>Dasya crouaniana</i> J. Agardh  | 6/1994  | La Pesca             | Tamaulipas   |
| <i>Digenea simplex</i> (Wulfen) C. Agardh 1  | 11/1994 | Tulum                | Quintana Roo |
| <i>Gelidiella acerosa</i> (Forsskall) Feldmann & Hamel                                 | 6/1994  | Barra de Corazones   | Veracruz     |
| <i>Gelidium crinale</i> (Turner) Gaillon   | 6/1994  | La Pesca             | Tamaulipas   |
| <i>Gracilaria blodgettii</i> Harvey  | 6/1994  | La Pesca             | Tamaulipas   |
| <i>Gracilaria bursa-pastoris</i> (Gmelin) Silva 1                                      | 2/1993  | Mecoacán             | Tabasco      |
| <i>Gracilaria cervicornis</i> (Turner) J. Agardh 1                                     | 6/1994  | Barra de Corazones   | Veracruz     |
| <i>Gracilaria cornea</i> J. Agardh   | 8/1995  | Puerto Morelos       | Quintana Roo |
| <i>Gracilaria mammillaris</i> (Montagne) Howe  | 6/1994  | Barra de Corazones   | Veracruz     |
| <i>Gracilaria venezuelensis</i> Taylor   | 7/1993  | Costa de Oro         | Veracruz     |
| <i>Gracilariopsis lemaneiformis</i> (Bory) Dawson, Acleto & Foldvik 2, 3               | 7/1993  | Costa de Oro         | Veracruz     |
| <i>Grateloupia doryphora</i> (Montagne) Howe   | 6/1994  | Barra de Corazones   | Veracruz     |
| <i>Grateloupia filicina</i> (Lamouroux) C. Agardh 1                                    | 6/1994  | Barra de Cazones     | Veracruz     |
| <i>Halitilon cubense</i> (Montagne ex Kützing) Garbary & Johansen                      | 6/1994  | Escollera de Tuxpan  | Veracruz     |
| <i>Hypnea musciformis</i> (Wulfen) Lamouroux 3   | 7/1993  | Escollera de Tuxpan  | Veracruz     |
| <i>Hypnea spinella</i> (C. Agardh) Kützing 1, 2, 3                                     | 6/1994  | Escollera de Tuxpan  | Veracruz     |
| <i>Laurencia intricata</i> Lamouroux   | 8/1995  | Puerto Morelos       | Quintana Roo |
| <i>Laurencia obtusa</i> (Hudson) Lamouroux   | 11/1994 | Chemuyil             | Quintana Roo |
| <i>Laurencia papillosa</i> (C. Agardh) Kützing o Greville 1                            | 7/1993  | La Mancha            | Veracruz     |
| <i>Prionitis pterocladina</i> Wynne  | 6/1994  | Barra de Cazones     | Veracruz     |
| <i>Pterocladia capillacea</i> (S. G. Gmelin) Bornet & Thuret                           | 6/1994  | Barra de Cazones     | Veracruz     |
| <i>Spyridia filamentosa</i> (Wulfen) Harvey in Hooker                                  | 8/1995  | Puerto Morelos       | Quintana Roo |

1 Especies analizadas en este estudio, colectadas en la Costa Atlántica en mas de una localidad o período anual.

2 Especies de las que ya se había analizado su actividad en ejemplares colectados en la Costa del Pacífico (1991).

3 Especies de las que ya se había analizado su actividad en ejemplares colectados en la Costa Atlántica (1992).



repitió la misma. Como testigo se usó la solución amortiguadora de fosfatos en lugar del extracto algal y se comparó su actividad anticoagulante contra 0.2 ml de solución de heparina a una concentración de 4 U. I. ml<sup>-1</sup>. Cuando la especie algal analizada, fue colectada en mas de una localidad o período anual, la actividad a la que se hace referencia es la del lugar o momento donde presentó el máximo valor.

### Resultados

Se analizaron un total de 49 especies, todas ellas presentaron al menos una leve respuesta anticoagulante, la mayoría retardaron la coagulación menos de un minuto, clasificándose a esta respuesta como actividad leve la cual se presentó en 29 especies (59.2%), presentaron actividad moderada 12 especies (24.5%), ésta fue siempre menor a 5 minutos. Solo ocho especies (16.3%) retardaron en forma significativa el proceso de coagulación con tiempos mayores a 10 minutos (Figura 2). Entre las clorofitas evaluadas, *Caulerpa cupressoides* (West in Vahl) C. Agardh, *Penicillus capitatus* Lamarck y *Udotea flabellum* (Ellis & Solander) Lamouroux, afectaron la coagulación de modo similar a la heparina, por mas de 10 minutos en la prueba de tiempo de protrombina. En la misma prueba, la feofíceea *Sargassum vulgare* C. Agardh, presentó resultados similares, igual actividad anticoagulante se observó en la rodofita *Pterocladia capillacea* (S. G. Gmelin) Bornet & Thuret.

Solo tres especies de la División Rhodophyta, *Gracilaria cervicornis* (Turner) J. Agardh y las dos especies estudiadas del género *Grateloupia*; *G. doryphora* (Montagne) Howe y *G. filicina* (Lamouroux) C. Agardh, retrasaron la coagulación mas de diez minutos en lo que respecta a la prueba del tiempo de trombina.

No se observó entre ambas pruebas de coagulación ninguna correspondencia en cuanto a valores

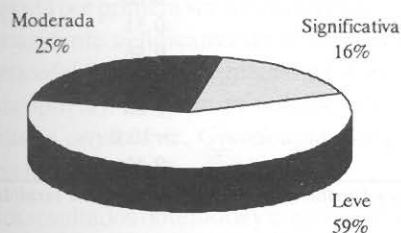


Figura 2. Distribución del grado de actividad anticoagulante de las especies analizadas.

significativamente altos. Es importante resaltar que ninguna de la especies estudiadas presentó actividad anticoagulante en ambas pruebas (Tabla 2).

### Discusión

La actividad anticoagulante de la rodofíceea *Pterocladia capillacea* fue reportada previamente por Güven *et al.* (1979), cuando probaron el extracto total y una fracción proteica denominada fracción I, los cuales igualaron la actividad anticoagulante de 0.2 UI de heparina en la prueba de tiempo de trombina. Nuestros resultados para la misma especie no son coincidentes ya que aunque esta especie retardó el tiempo de coagulación por un tiempo mayor a 10 minutos, esto solo fue en la vía extrínseca (prueba de tiempo de protrombina), esta diferencia podría deberse a las diferentes condiciones de los sitios de colecta y a las épocas en que se realizaron las mismas.

Las especies de *Grateloupia* de las que previamente se ha reportado su actividad anticoagulante son: *G. turuturu* investigada por Efimov *et al.*, (1983), los cuales purificaron los carragenanos presentes en esta alga, sus resultados mostraron que estas moléculas tuvieron potencia similar a la heparina en la prueba de Pitney y Dacie (1953) y *G. dichotoma* J. Agardh, estudiada por Güven *et al.* (1991), ellos demostraron que el carragenano obtenido de dicha especie, detuvo la coagulación del plasma humano durante 5.7 minutos en la prueba de tiempo de trombina y débilmente en el tiempo de protrombina (0.52 minutos). Estos resultados coinciden con los observados en las especies mexicanas de este género, con la salvedad que el retraso de la coagulación producido por los extractos de *G. doryphora* y *G. filicina* fue mayor que el obtenido por estos autores.

Solamente *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfus, ha sido reportada como anticoagulante, aunque solamente retardó la coagulación por 1.1 minutos en las dos pruebas estudiadas por Deacon-Smith *et al.* (1985b). *Gracilaria cervicornis*, analizada en este trabajo, detuvo la coagulación del plasma en la vía intrínseca (tiempo de trombina) por mas de 10 minutos. En la prueba de tiempo de protrombina se obtuvo un resultado similar con el extracto de *Sargassum vulgare*; previamente solo se había reportado actividad anticoagulante en los fucanos sulfatados de *Sargassum linifolium* (Abdel-Fattah *et al.*, 1974) y en el extracto crudo de *Sargassum hystrix* J. Agardh (De Lara-Isassi y Alvarez-Hernández, 1995).

Tabla 2. Resultados de las pruebas anticoagulantes de los extractos de las 49 especies analizadas.

| ESPECIES                                 | Tiempo de Trombina<br>(minutos) | Tiempo de Protrombina<br>(minutos) |
|--|---------------------------------|------------------------------------|
| <b>DIVISIÓN CHLOROPHYTA</b>              |                                 |                                    |
| <i>Caulerpa cupressoides</i>             | 0.28                            | > 10.0                             |
| <i>Chaetomorpha antennina</i> 2          | 0.40                            | 0.38                               |
| <i>Cladophora sericea</i>                | 0.18                            | 0.38                               |
| <i>Cymopolia barbata</i>                 | 1.33                            | 0.28                               |
| <i>Enteromorpha intestinalis</i> 1, 2    | 0.12                            | 0.25                               |
| <i>Penicillus capitatus</i>              | 0.35                            | > 10.0                             |
| <i>Udotea flabellum</i> 3                | 0.30                            | > 10.0                             |
| <i>Ulva fasciata</i> 1, 3                | 1.15                            | 0.57                               |
| <i>Ulva lactuca</i> 2                    | 0.23                            | 0.21                               |
| <b>DIVISIÓN PHAEOPHYTA</b>               |                                 |                                    |
| <i>Chnospora minima</i> 1, 2             | 1.19                            | 0.25                               |
| <i>Colpomenia sinuosa</i>                | 0.54                            | 0.26                               |
| <i>Dictyota bartayresiana</i> 3          | 0.41                            | 0.49                               |
| <i>Dictyota cervicornis</i> 3            | 0.31                            | 0.46                               |
| <i>Hincksia breviarticulata</i>          | 0.39                            | 0.24                               |
| <i>Lobophora variegata</i> 1             | 0.20                            | 1.50                               |
| <i>Padina boergesii</i> 1                | 2.34                            | 0.26                               |
| <i>Sargassum cymosum</i>                 | 1.30                            | 1.30                               |
| <i>Sargassum filipendula</i> 3           | 0.16                            | 1.22                               |
| <i>Sargassum pteropleuron</i> 3          | 1.00                            | 1.40                               |
| <i>Sargassum vulgare</i> 1               | 0.25                            | > 10.0                             |
| <i>Spatoglossum schroederi</i>           | 0.11                            | 1.44                               |
| <i>Turbinaria tricornata</i> 3           | 0.18                            | 0.23                               |
| <b>DIVISIÓN RHODOPHYTA</b>               |                                 |                                    |
| <i>Acanthophora spicifera</i>            | 0.46                            | 0.46                               |
| <i>Bryocladia cuspidata</i>              | 0.39                            | 0.22                               |
| <i>Bryocladia thyrsgera</i>              | 0.16                            | 0.38                               |
| <i>Bryothamnion triquetrum</i> 1         | 0.50                            | 0.50                               |
| <i>Centroceras clavulatum</i> 1          | 0.40                            | 0.30                               |
| <i>Dasya crouaniana</i>                  | 0.40                            | 0.30                               |
| <i>Digenea simplex</i> 1                 | 0.30                            | 0.45                               |
| <i>Gelidiella acerosa</i>                | 0.11                            | 0.28                               |
| <i>Gelidium crinale</i>                  | 0.18                            | 0.29                               |
| <i>Gracilaria blodgettii</i>             | 0.18                            | 0.30                               |
| <i>Gracilaria bursa-pastoris</i> 1       | 4.32                            | 0.54                               |
| <i>Gracilaria cervicornis</i> 1          | > 10.0                          | 0.30                               |
| <i>Gracilaria cornea</i>                 | 0.29                            | 0.37                               |
| <i>Gracilaria mammillaris</i>            | 0.12                            | 0.40                               |
| <i>Gracilaria venezuelensis</i>          | 0.15                            | 0.28                               |
| <i>Gracilariopsis lemaneiformis</i> 2, 3 | 1.58                            | 1.30                               |
| <i>Grateloupia doryphora</i>             | > 10.0                          | 0.32                               |
| <i>Grateloupia filicina</i> 1            | > 10.0                          | 2.47                               |
| <i>Haliptilon cubense</i>                | 0.30                            | 0.26                               |
| <i>Hypnea musciformis</i> 3              | 0.43                            | 0.26                               |
| <i>Hypnea spinella</i> 1, 2, 3           | 0.11                            | 0.26                               |
| <i>Laurencia intricata</i>               | 0.25                            | 0.31                               |
| <i>Laurencia obtusa</i>                  | 0.31                            | 0.56                               |
| <i>Laurencia papillosa</i> 1             | 2.15                            | 0.25                               |
| <i>Prionitis pterocladina</i>            | 0.09                            | 0.26                               |
| <i>Pterocladia capillacea</i>            | 1.07                            | > 10.0                             |
| <i>Spyridia filamentosa</i>              | 0.32                            | 0.41                               |

1 Especies analizadas en este estudio, colectadas en el Golfo de México y Caribe Mexicano en mas de una localidad o período anual.

2 Especies de las que ya se había analizado su actividad en ejemplares colectados en la Costa del Pacífico (1991).

3 Especies de las que ya se había analizado su actividad en ejemplares colectados en el Golfo de México y Caribe Mexicano (1992).

En un estudio previo ya se había analizado la actividad anticoagulante de algunas de las especies referidas en este trabajo, colectadas en la costa del Pacífico en los estados de Oaxaca y Chiapas en mayo de 1991 y en la costa Atlántica en La Pesca, Tamaulipas en marzo de 1992 y en Puerto Morelos, Quintana Roo en julio de 1992 (Tabla 1), obteniéndose resultados similares a los observados en la presente investigación. Aunque la mayoría de los extractos presentaron actividad moderada, mayor a un minuto, no obstante fue poco significativa si se compara con la actividad del testigo de heparina, (De Lara-Isassi y Alvarez-Hernández, 1995).

Giddings (1980) define la vía extrínseca como la interacción de los factores del plasma y la protrombina tisular y la vía intrínseca como la acción conjunta de los factores presentes en el plasma y fosfolípidos, las dos vías tienen como punto final la conversión de fibrinógeno en fibrina por la acción de la trombina. Las sustancias presentes en las macroalgas estudiadas ejercieron su efecto en alguna de las dos vías de la cascada de coagulación.

Consideramos que alguna sustancia del extracto algal, ejerció su efecto a nivel del último paso de la serie de reacciones de la coagulación, no permitiendo la conversión de protrombina en trombina, el probable mecanismo de acción fue al impedir el desdoblamiento de la protrombina para su activación a trombina como lo planteó Seegers (1962), o bien inhibiendo la acción proteolítica de la trombina sobre el fibrinógeno.

El método de extracción de estas sustancias por medio de soluciones amortiguadoras ha permitido detectar extractos con potencia anticoagulante, lo cual ha sido puesto de manifiesto por los resultados de Deacon-Smith y Rogers (1982) y Deacon-Smith *et al.*, (1985 a y b) con algas de las costas Británicas, particularmente con el extracto de la clorofita *Codium fragile* y los de De Lara-Isassi y Alvarez-Hernández (1995) para otra clorofita, *Halimeda discoidea*, colectada en las costas mexicanas. En ambos casos, los extractos tuvieron la misma potencia anticoagulante que la heparina.

Se reporta por primera vez a nivel mundial, la actividad anticoagulante significativa de las especies: *Caulerpa cupressoides*, *Penicillus capitatus* y *Udotea flabellum* (Chlorophyta); *Sargassum vulgare* (Phaeophyta); *Gracilaria cervicornis*, *Grateloupia doryphora* y *G. filicina* (Rhodophyta).

Por los resultados obtenidos y considerando que solo fue detectada actividad en alguna de las vías del proceso de coagulación del plasma humano, podemos

proponer a *Caulerpa cupressoides*, *Penicillus capitatus* y *Udotea flabellum* (Chlorophyta); *Sargassum vulgare* (Phaeophyta); *G. cervicornis*, *Grateloupia doryphora*, *Grateloupia filicina* y *Pterocladia capillacea* (Rhodophyta), como especies prometedoras para ser analizadas con mayor profundidad y para ser consideradas para la futura extracción y determinación de sustancias que puedan ser usadas como anticoagulantes con efectos semejantes a los de la heparina.

### Literatura citada

**Abdel-Fattah, H. F., M. M-D Hüssein and H. M. Salem, 1974.** Studies of the purification and some properties of sargassan, a sulphated heteropolysaccharide from *Sargassum linifolium*. *Carbohydr. Res.* 33:9-17.

**Adams, S. S., B. V. Heathcote and D. Walker, 1962.** Sulphated degraded laminarin: an antilipaemic agent. *J. of Artheros. Res.* 2:314-316.

**Anderson, W., 1967.** Carrageenan, structure and biological activity. *Can. J. Pharm. Sci.* 2:81-90.

**Anderson, W. and J. G. C. Duncan, 1965.** The anticoagulant activity of carrageenan. *J. Pharm. Pharmacol.* 17:647-654.

**Bernardi, G. and G. F. Springer, 1962.** Properties of a highly purified fucan. *J. Biol. Chem.* 237:75-80.

**Chargaff, E., F. W. Bancroft and M. Stanley-Brown, 1936.** Studies on the Chemistry of blood coagulation. II. On the inhibition of blood clotting by substances of high molecular weight. *J. Biol. Chem.* 115:155-161.

**Craigie J. S. and C. Leigh, 1978.** Carrageenans and agars. In: J. A. Hellebust, J. S. Craigie (Comps.). *Handbook of Phycological Methods. Physiological and Biochemical Methods.* Cambridge University Press. Londres, Inglaterra, pp. 109-131.

**Constantinides, P., A. Cairns and A. Werner, 1954.** Antilipemic activity of sulphated polysaccharides. *Arch. Int. Pharmacodynamics* 99:334-3450.

**Deacon-Smith, R.A., J. P. Lee-Potter and D. J. Rogers, 1985a.** Platelet aggregation in the presence of extracts of British marine algae. *Med. Lab Sci.*, 42:404-405.

**Deacon-Smith, R.A., J. P. Lee-Potter and D. J. Rogers, 1985b.** Anticoagulant activity in extracts of British marine algae. *Bot. Mar.* 28:333-338.

**Deacon-Smith, R.A. and D. J. Rogers, 1982.** Antihæmstatic activities of British marine algae. *Br. Phycol. J.* 17:231.

- De Lara-Isassi, G. y S. Álvarez-Hernández, 1995.** Propiedades anticoagulantes de extractos de algas marinas mexicanas: *Halimeda discoidea* (Chlorophyta) con actividad semejante a la heparina. *Cryptogamie Algol.* 16:199-205.
- Efimov, V. S., A. L. Usov, T. S. Ol'skaya, A. Baliunis and M. Ya. Rozlin, 1979.** Comparative study of anticoagulant activity of sulphated polysaccharides obtained from a red algae. *Farmakol. Tolskol., (Moscow)* 46:61-67.
- Elsner, H., 1938.** Über das vorkommen von hockwirksamen, die blutgernnug hemmenden stoffen in meeresalgen. II. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.,* 252:196-200.
- Elsner, H., W. Broser and E. Bürgel, 1937.** Über das vorkommen von hockwirksamen, die blutgernnug hemmenden stoffen in rotalgen. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.,* 246:244-247.
- Giddins, J. C., 1980.** The investigation of hereditary coagulation disorders. In: J. M. Thomson (Comp). *Blood Coagulation and Haemostasis. A Practical Guide.* Pitman Press, Bath, London, pp. 48-116.
- Güven, F. C., E. Güler, E. Aktin and H. Koyuncoglu, 1979.** Studies on *Pterocladia capillacea* (Gmel.) Born et Thur. Part II. In: H. A. Hoppe, T. Levring and Y. Tanaka (Comps.). *Marine algae in pharmaceutical science.* Walter de Gruyter, Berlin, pp. 693-710.
- Güven, K. C., Y. Özoy and O. N. Ulutin, 1991.** Anticoagulant, fibrinolytic and antiaggregant activity of carrageenans and alginic acid. *Bot. Mar.* 34:429-432.
- Hawkins, W. W. and V. G. Leonard, 1958.** The physiological activity of laminarin sulphate. *Can. J. Biochem. Physiol.* 36:161-170.
- Howeel, W. H., 1922.** Heparin, an anticoagulant: preliminary communication. *Amer. J. Physiol.* 47:328-341.
- Larsen B., 1978.** Alginic acid. En: J. A. Hellebust, J. S. Craigie (Comps.). *Handbook of phycological methods. Physiological and Biochemical Methods.* Cambridge University Press. Londres, Inglaterra. pp 143-149.
- McCandless, E. L., 1981.** Polysaccharides of the seaweeds. In: C. S. Lobban y M. J. Wynne (Comps.). *The Biology of seaweeds. Botanical Monographs* Vol. 17. Blackwell Scientific Publications. Londres, Inglaterra, pp. 559-588.
- Nishino, T. and T. Nagumo, 1987.** Sugar constituent and blood-anticoagulant activities of fucose-containing sulphated polysaccharides in nine brown seaweeds. *J. Agric. Chem. Soc. Jap.* 61:361-363.
- Nishino, T. and T. Nagumo, 1991.** Change in the anticoagulant activity and composition of a fucan sulphate from the brown seaweed *Ecklonia kurome* during refrigerated storage of the fronds. *Bot. Mar.* 34:387-389.
- Nishino, T. and T. Nagumo, 1992.** Anticoagulant and antithrombin activities of oversulphated fucans. *Carbohydr. Res.* 22:355-362.
- Nishino, T., G. Yokoyama, K. Dobashi, M. Fijihara and T. Nagumo, 1989.** Isolation, purification and characterization of fucose-containing sulphated polysaccharides from the brown seaweed *Ecklonia kurome* and their blood-anticoagulant activities. *Carbohydr. Res.* 186:119-129.
- Olson, S. T., I. Björk and J. D. Shore, 1993.** Kinetic characterization of heparin-catalyzed and uncatalyzed inhibition of blood coagulation proteinases by antithrombin. In: J. N. Abelson and M. I. Simon (Comps.). *Methods in Enzymology* Vol. 222. Academic Press. San Diego, California, EUA, pp. 525-559
- Percival, E., 1979.** The polysaccharides of green, red and brown seaweeds; their basic structure, biosynthesis and function. *Br. Phycol. J.* 14:103-117.
- Pitney, W. R. and J. V. Dacie, 1953.** A simple method of studying the generation of thrombin in recalcified plasma. *J. Clin. Path.* 6:9-13.
- Quick, A. J., 1945.** On the quantitative estimation of prothrombin. *Amer. J. Clin. Path.* 15:560-566.
- Seegers, W. F., 1962.** *Prothrombin.* Cambridge Mass., Harvard University Press.