

BIODISPONIBILIDAD DE LAS ALCAMIDAS PRESENTES EN LA FORMULACIÓN DE UN GEL MUCOADHESIVO CON EXTRACTO DE RAIZ *H. LONGIPES*

Juárez Villalobos, Luis Daniel (1), Bustos Gómez Chrystyan Iván (2), Rodríguez Galván Marissa (3)

1 [Bachillerato de Ciencias naturales y exactas, Escuela de Nivel Medio Superior de Irapuato, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [luisdanieljuarez.92@gmail.com]

2 [Laboratorio de Biología, Escuela de Nivel Medio Superior de Irapuato, Colegio de Nivel Medio Superior, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [ci.bustos@ugto.mx]

3 [Laboratorio de Fitobioquímica, Centro de Investigación y Estudios Avanzados Unidad Irapuato] | Dirección de correo electrónico: [Marissa.rodriguez@cinvestav.mx]

Resumen

Heliopsis longipes es una especie nativa de Guanajuato, conocida también como chilcuague. Ésta es una planta herbácea perenne perteneciente a la familia de Asteraceae [1]. Utilizada por civilizaciones indígenas como condimento para la comida y como un tratamiento para el dolor de muelas (Correa et al., 1971). Actualmente se sabe que los componentes responsables de su bioactividad son las alcámidas, entre ellas la afinina es la que se encuentra en mayor cantidad. En este proyecto se utilizó la técnica de Cromatografía de Capa Fina (TLC) para determinar la biodisponibilidad, así como, la estabilidad del extracto de *H. longipes* en tres diferentes formulaciones de gel mucoadhesivo.

Abstract

Heliopsis longipes is a native species of Guanajuato, also known as chilcuague. This is a perennial herbaceous plant belonging to the family Asteraceae [1]. Used by indigenous civilizations as a condiment for food and as a treatment for toothache (Correa et al., 1971). Currently it is known that the components responsible for its bioactivity are alkamides, among which afinin is the one that is found in the greatest amount. In this project, the Thin Layer Chromatography (TLC) technique was used to determine the bioavailability, as well as, the stability of to *H. longipes* extract in three different mucoadhesive gel formulations.

“PALABRAS CLAVE”

H. Longipes; Afinina; Analgésico local; TLC (Cromatografía de Capa Fina)

INTRODUCCIÓN:

Heliopsis longipes.

Dentro de las especies nativas de Guanajuato destaca la *Heliopsis longipes* “chilcuague” [2]. Ésta es una planta herbácea perenne perteneciente a la familia Asteraceae. Llega a medir de entre 40 a 80 cm, florece de agosto a octubre, con cabezuelas amarillas y un largo pedúnculo. Sus raíces alcanzan un tamaño de entre 15 a 30 cm. Crece a una altitud de 1,950 a 2,500 metros sobre el nivel del mar [1].

En la zona de la Sierra Gorda de Guanajuato, sus raíces son conocidas como chilcuague. Se ha encontrado en los encinares del noreste de Guanajuato y de Querétaro. Es una especie endémica del centro de México, San Luis Potosí, Guanajuato y Querétaro [3].

Es una planta que ha sido utilizada por sus diferentes propiedades medicinales, en las que destacan los usos como bactericida e insecticida. También ha sido muy utilizada para los dolores de muelas (odontalgia) y laceraciones en la boca [2].

En el presente se saben pocas cosas en relación al mecanismo neurológico relacionado a la modulación del dolor provocado por la afinina, agente activo de la *H. longipes*, sin embargo la participación del sistema GABA (ácido γ -aminobutírico) ya ha sido documentada. El ácido γ -aminobutírico es el principal neurotransmisor inhibidor de nuestro cuerpo. [4]

MARCO TEORICO:

La cromatografía como herramienta en la formación de perfiles fitoquímicos:

Durante la identificación química de una muestra biológica se puede realizar una cromatografía la cual se puede definir como “una separación técnica basada en la diferencia de afinidad de una muestra a dos fases inmiscibles, una fase estacionaria y una móvil” [5], esto quiere decir que durante una cromatografía se van a separar los compuestos que conforman una mezcla, utilizando dos fases, una fase estacionaria, que es donde vamos a colocar nuestra muestra (la cual puede ser por placa, papel o columna) y una fase móvil, la cual estará encargada de hacer que nuestros compuestos se desplacen en la fase estacionaria (por medio de solventes). Esto para para generar una huella digital cromatográfica (Reich, E., & Schibli, A. 2008).

El término cromatografía fue empleado por primera vez por el ruso Mikhail Tswett en 1903, el cual trabajó con la clorofila y al realizar las extracciones de las hojas vegetales, los distintos solventes mostraban comportamientos diferentes, sin embargo no fue hasta la década de 1930 cuando Lederer y Khun volvieron a retomar la técnica para la separación de carotenoides. [5]

En este proyecto se decidió utilizar la técnica de la Cromatografía de Capa Fina debido a sus resultados visuales la flexibilidad del método y por el análisis paralelo de muestras, lo cual nos permitió comparar las alcaloides presentes en el extracto de raíz de *H. longipes*, dentro de tres formulaciones de un gel mucoadhesivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección e identificación de los especímenes vegetales

El material vegetal se colectó en el huerto localizado en el poblado de “Rio Chico” (Log. 100.045278 Lat. 21.309167) del municipio de Xichú ubicado en la Sierra Gorda de Guanajuato durante el verano. Se realizó la identificación de acuerdo con la descripción taxonómica referida por Rzedowski, en los fascículos publicados de la Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes. Posteriormente se realizó una separación en cada uno de sus órganos y se secaron a temperatura ambiente.

Extracción de las alcamidas:

Para la realización del extracto se seleccionó únicamente la raíz, se lavó y seccionó en porciones de 0.5 cm. Se pesaron 10 g de raíz triturada de *Heliopsis longipes*, se dejaron macerar durante dos semanas a temperatura ambiente, en 100 mL de alcohol etílico al 99.5%. El extracto se decantó y se centrifugó a 2500 rpm durante 5 min, para eliminar los restos de partículas solidas. El extracto se concentró en un matraz de 250 mL con agitación magnética constante a una temperatura entre 70-75 °C, hasta obtener un volumen final de 1.5 mL. Se almaceno a 4°C hasta su análisis. Para aplicación del extracto en las placas de TLC se preparó una solución 1:10 v/v en etanol.

Ensayo de biodisponibilidad por TLC

Se utilizaron dos placas de gel de sílice (Whatman 60 A, 250 µm, en soporte de vidrio) de 20 cm de alto por 5 cm de ancho, se marcaron los puntos para la aplicación de las bandas de 0.8 cm de longitud dejando una distancia entre bandas de 0.8 cm, así como una distancia hacia los bordes inferior y laterales de 1.5 cm. En la primera placa se aplicaron 5 µL del extracto etanólico (1:10 v/v), de *H. longipes* y 5 µL de la formulación alfa en etanol (1:10 v/v). En la segunda placa se aplicaron 5 µL de formulación beta en etanol (1:10 v/v) y 5 µL de la formulación gamma en etanol (1:10 v/v). Para el desarrollo se utilizó una mezcla de solventes de hexano acetato de etilo (2:1 v/v), se saturó la cámara por 5 minutos previos, las placas se desarrollaron juntas hasta una altura de 18 cm, en un tiempo aproximado de 90 minutos. Se utilizó como revelador de vainillina-ácido sulfúrico (Wagner) el cual consiste en sumergir las placas en una solución (A) de vainillina en etanol al 2% y posteriormente sumergirlas en una segunda solución (B) de ácido sulfúrico en etanol al 10%. Finalmente las placas se calentaron en una parrilla de 5 a 10 min a 110 °C aproximadamente [6]. Como ultimo paso se obtuvieron evidencias tomando las fotografías presentadas en la Figura 1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

Para determinar la biodisponibilidad de las alcamidas en el gel mucoadhesivo se compararon los resultados en los perfiles de alcamidas presentados por el extracto puro, y las tres diferentes formulaciones (alfa, beta y gamma). En la Figura 1 se puede observar que la intensidad de las bandas va disminuyendo en las diferentes formulaciones lo cual indica que entre menor sea la intensidad de banda, existe una menor concentración de alcamidas, considerando que en todas las formulaciones la concentración final del fue la misma, al disminuir la concentración de alcamidas nos indica que existe una mayor retención del principio activo por la base del gel.

Para el análisis se utilizó a la afinina como banda de referencia por ser la banda mas intensa. La afinina presenta un RF de 0.54, disminuyendo la concentración de la misma en cada una de las formulaciones, siendo la formulación alfa la que presenta una mayor biodisponibilidad en comparación a la formulación beta y gamma.

CONCLUSIONES

Por medio de la técnica de TLC se pudo comprobar que la afinina se encuentra de manera estable y biodisponible en 3 formulaciones de gel mucoadhesivo, siendo la formulación alfa la que presenta una mayor biodisponibilidad.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo recibido por parte de los directivos la Escuela de Nivel Medio Superior de Irapuato.

REFERENCIAS

- [1] Rzedowski, J., & Rzedowski-Calderón de, G. (2008). Familia Compositae tribu Heliantheae I (géneros *Acmella* - *Jefea*) Fascículo 157 Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes. Pátzcuaro, Michoacán: Instituto de Ecología, A.C., 169-343
- [2] Zamudio-Ruiz, S., & Galván- Villanueva, R. (2011). La diversidad vegetal del estado de Guanajuato. Flora del Bajío y de regiones Adyacentes. Fascículo Complementario 27(63). México: Instituto de Ecología AC.
- [3] Carranza-González, E. (2005). Conocimiento Actual de la Flora y la Diversidad Vegetal del Estado de Guanajuato, México. Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes Fascículo Complementario XXI: 1-17. Pátzcuaro Michoacán: Instituto de Ecología A.C.
- [4] M. Y. Rios, A. B. Aguilar-Guadarrama & M. C. Gutierrez (2006). Analgesic activity of affinin, an alkamide from *Heliopsis longipes* (Compositae). *Journal of Ethnopharmacology* 110 (2007) 364–367
- [5] Reich, E., & Schibli, A. (2008). *High-Performance Thin-Layer Chromatography for the Analysis of Medicinal Plants.*: Thieme Medical Publishers, Inc. New York.
- [6] Wagner, H., & Bladt, S. (1996). *Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas.* New York: Springer.

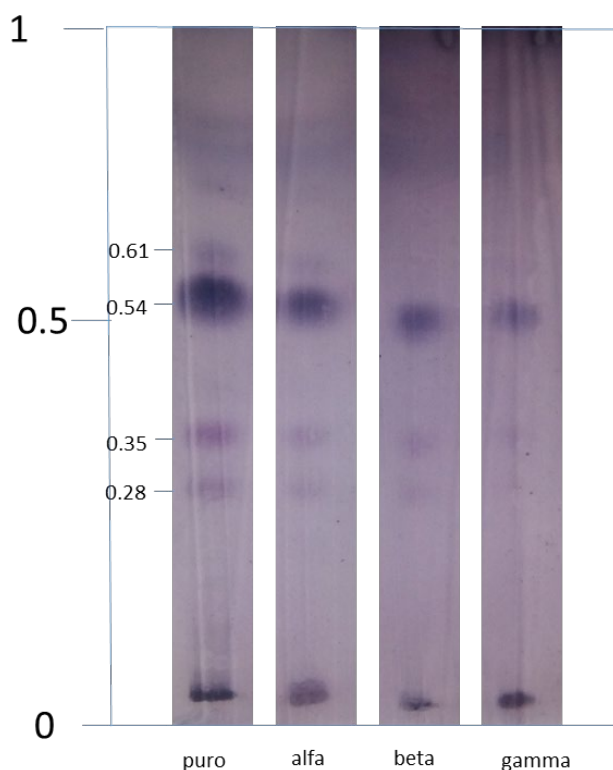


FIGURA 1.- ANÁLISIS DE BIODISPONIBILIDAD DE ALCAMIDAS

La biodisponibilidad de las alcamidas en diferentes formulaciones de un gel mucoadhesivo, esta relacionada con la concentración de los componentes del extracto. 1) Extracto etanólico de raíz de *H. longipes*; 2) Formulación alfa; 3) Formulación beta; 4) Formulación gamma. Se puede observar mayor biodisponibilidad en el gel mucoadhesivo de la formulación alfa.