

DISEÑO, FORMULACIÓN Y EVALUACIÓN DE UN GEL MUCOADHESIVO CON UN EXTRACTO DE *Heliopsis longipes*

Aguirre Cortez Asael Baalam (1), QFB. Bustos Gómez Chrystyan Iván (2)

1 [Bachillerato General en Ciencias experimentales, Escuela de Nivel Medio Superior de Irapuato, Universidad de Guanajuato] | [asaalcortez18@gmail.com]

2 [Laboratorio de Biología, Escuela de Nivel Medio Superior de Irapuato, Universidad de Guanajuato] | [bustosg@outlook.com]

Resumen

El estado de Guanajuato cuenta con una gran diversidad vegetal en la cual se han caracterizado especies con propiedades farmacológicas. La *Heliopsis longipes* de la familia Asteraceae, es una planta de tipo perene endémica de la Sierra Gorda; diversos estudios atribuyen propiedades anestésicas, analgésicas y biocidas. En el presente estudio se elaboraron extractos etanólicos concentrados; fueron dosificados a 250 μ L/gr en 2 diferentes formulaciones de gel mucoadhesivo; se realizaron pruebas de estabilidad química (pH); centrifugación y térmicas con el propósito de asegurar su estabilidad. Para comprobar su actividad anestésica y biocida se utilizó un modelo animal y cultivos bacterianos en placa obteniendo buenos resultados. Las pruebas fisicoquímicas realizadas a las formulaciones dosificadas y al extracto demostraron ser estables en diferentes condiciones.

Abstract

The state of Guanajuato has a great diversity of plants in which species with pharmacological properties have been characterized. The *Heliopsis longipes* of the family Asteraceae, is a perennial plant endemic to the Sierra Gorda; Several studies attribute anesthetic, analgesic and biocidal properties. In the present study concentrated ethanol extracts were elaborated; Were dosed at 250 μ L/g in 2 different mucoadhesive gel formulations; Chemical stability (pH) tests were performed; Centrifugation and thermal insulation in order to ensure its stability. To verify its anesthetic and biocidal activity an animal model and bacterial cultures in plate were used obtaining good results. The physicochemical tests carried out on the dosed formulations and the extract showed to be stable under different conditions.

Palabras Clave

Alcámidas; Biocida; *Heliopsis*; Extracto; Anestésico; Antiinflamatorio

INTRODUCCIÓN

Heliopsis longipes pertenece a la tribu *Heliantheae* de la familia *Asteraceae*, es una planta de tipo perene endémica de la sierra gorda en el centro de México con colindancia de los estados de Guanajuato, San Luis Potosí y Querétaro, en esta región están incluidos municipios del norte de Guanajuato [1]. Estudios etnobotánicos encuentran para esta planta nombres comunes como chilcuán o pelitre, además de sus usos como condimento en salsas, insecticida, bebidas alcohólicas y principalmente en medicina tradicional [2].

Estudios previos con extractos crudos de esta planta han identificado propiedades farmacológicas como anestésico debido a su acción sobre el sistema nervioso, además de propiedades antiinflamatorias por la inhibición de prostaglandina y por último actividad bacteriostática y fungistática [4] [3]. Estas propiedades farmacológicas son atribuidas a un grupo de compuestos llamados alcanidas presentes principalmente en las raíces en altas concentraciones de hasta 9,369 µg/g de peso seco. De estas alcanidas el 85% corresponde a afinina (N-isobutil-2E,6Z,8E - decatrienamida) IMAGEN 1, responsable de estos efectos [1] [6].

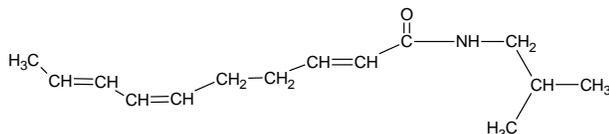


IMAGEN 1: Fórmula estructural de afinina (C₁₄ H₂₃ NO)

Como su nombre lo indica, los geles mucoadhesivos se identifican por fijarse a los tejidos mucosos característicos de las cavidades corporales. Además de la buena adhesión del gel el tiempo de residencia a los fluidos es prolongada, por lo que el período de contacto es mayor, aumentando así su eficacia clínica; aunado estos geles tienen la capacidad de realizar una liberación controlada del principio activo [5].

El presente proyecto tuvo como propósito realizar una evaluación 2 formulaciones de un gel mucoadhesivo con extractos de *Heliopsis longipes* a diferentes condiciones, con el objetivo de

comprobar su estabilidad, su actividad biocida y anestésica

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 alcanidas

Para la realización del extracto se seleccionó únicamente la raíz, se lavó y seccionó en porciones de 0.5 cm. Se pesó 10 gramos de materia vegetal, se adicionaron 100 ml de alcohol etílico absoluto grado reactivo (99.5%), posteriormente se trituró la raíz por 1 hr en mortero. Se dejó en maceración por 48 horas. La materia orgánica y el extracto crudo fue separado por decantación, para separar las partículas más pequeñas de las muestras se utilizó una centrifuga (C818-PowerSpin). Después, las muestras fueron evaporadas y concentradas en baño de agua en un plato caliente (Arsa-pc) a 90 ± 5°C

Preparación de las formulaciones de gel

Para el desarrollo de la formulación 1 (F1) se utilizó agua desionizada (pure lab), se elevó a 80°C y se disolvió una mezcla de metil parabeno y propil parabeno, posteriormente se estabilizó la temperatura a 40°C y se dispersó carbopol 940 con agitación constante usando un agitador mecánico (C-MAG HS7) a 800 rpm durante 20 min. Además, se disolvió PEG 400 y se ajustó a pH 6 con trietanolamina hasta obtener un gel

homogéneo. Para el desarrollo de la formulación 2 (F2) se procedió como se explicó anteriormente, pero utilizando una mezcla de Carbopol 940 y CMC de sodio hasta obtener un gel homogéneo y sin ajuste de pH con trietanolamina.

Evaluación de pH

Se midieron los valores de pH de las formulaciones dosificadas F1 y F2 (250µL/gr) y los extractos evaporados, para comprobar su estabilidad. Se pesó 1 gramo de cada una de las formulaciones de gel y se dispersó en 10 ml de agua destilada. Estos fueron medidos por triplicado con un potenciómetro digital (Hanna, HI-8014) que ha sido calibrado antes de cada uso con soluciones tampón estándar (NIST, Buffer Packs) a pH 4, 7 y 10. Las mediciones se realizaron a 24hr, 48hr, 1 semana y 2 semanas después de la elaboración de cada uno; se calcularon los valores promedio con desviación estándar.

Prueba de centrifugación

Después de 72hr de preparar la formulación de los geles, fueron transferidos a tubos con rosca e introducidos a una centrifuga (C818-PowerSpin) a 2000rpm a 5, 15 y 30 minutos. Esto con el propósito de comprobar la estabilidad de sus propiedades física frente a una fuerza centrífuga.

Prueba térmica

Con el propósito de investigar la estabilidad de sus propiedades físicas a diferentes condiciones ambientales, 72 h después de la preparación de las formulaciones, se colocaron muestras por duplicado y se sometieron a 4°C, 25°C y 45°C. Las formulaciones de gel fueron evaluadas a las 24hr, 48hr, 1 semana y 2 semanas.

Evaluación actividad antibacteriana In vitro

El agente etiológico más común de las infecciones en cavidades corporales son *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* [7]. Se elaboraron medios de cultivos en placa estériles en agar nutritivo (MCD-LAB) y posteriormente inoculados

por estriado realizando 2 series por triplicado, en la primera serie se colocaron por 25µL del extracto concentrado y en la segunda 25 µl de la formulación 1 y 2. Se incubaron 24hr a 35°C para permitir el crecimiento bacteriano. Se midió el diámetro de la zona de inhibición en milímetros con su promedio y desviación estándar.

Evaluación actividad anestésica

Se manipularon ratones machos albinos (30-35g) con libre acceso a alimento y agua, se mantuvieron a temperatura controlada (25 ± 2 ° C) con ciclos de luz-oscuridad de 12/12. Los roedores fueron sometidos a punciones en la región caudal y se cuantifico cualitativamente la respuesta y se clasifico en 4 niveles. Posteriormente fueron sometidos a los 2 tratamientos F1 y F2 (250 µl/g) por grupos y se midió la respuesta.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una vez clasificados y procesados los especímenes vegetales de raíz se obtuvo un extracto etanólico, que posterior a la eliminación del solvente por 3.5hr se concentró en un compuesto oleoso de 2.5ml del cual aproximadamente 85% es afinina que representa el 21.2 % del peso seco de la muestra [1].

Una vez obtenidas las formulaciones F1 y F2 fueron evaluadas sus características físicas como se muestra en la tabla 1, posteriormente fueron dosificadas con el extracto oleoso a una concentración de 250µL/gr de gel,

Tabla 1: características físicas de las formulaciones

Características físicas	Formulación	
	F1	F2
Color	translucido	nebuloso
Homogeneidad	completa	completa
Consistencia	viscosa	espeso
Presencia de Partículas	negativa	negativa

La F1 y F2 presentaron buenas características físicas que le confirieron estabilidad a las formulaciones ya que en los posteriores periodos no hubo un cambio de ninguna de las propiedades en ambos geles, cabe mencionar que la F2 desde el momento de su formulación presentó un aspecto más opaco y más semisólido; Los resultados obtenidos de la medición del pH que se muestran en la tabla 2 no muestran variaciones significativas ni una elevada desviación estándar, lo que indicativo de que no existe una degradación de los componentes en el extracto o los geles, en ninguno de los periodos de prueba.

Tabla2: Resultados estabilidad de propiedades Físicas en prueba de pH y Temperatura

Prueba de pH					
\bar{x}					
Muestra	24 horas	48 horas	1ª semana	2ª semana	SD
Extracto	5.48	5.40	5.35	5.43	0.05
F1	6.38	6.43	6.37	6.36	0.03
F2	5.53	5.66	5.54	5.57	0.06
Prueba de temperatura					Análisis
Extracto	√	√	√	√	Invariable
F1	√	√	√	√	Invariable
F2	√	√	√	√	Invariable

√=Estable sin cambios en las propiedades físicas
X= Inestable, presentó cambios

De igual forma, en la tabla 2 se registraron las observaciones en la prueba térmica realizadas a diferentes tiempos y no se apreciaron cambios en las propiedades del extracto o los geles; además, en la prueba de centrifugación, a pesar de la fuerza generada sobre las muestras no observo la presencia de ningún precipitado o la formación de fases. Estos valores reflejan en general una estabilidad fisicoquímica tanto del extracto como de F1 y F2.

La actividad antibacteriana del extracto como de las formulaciones se evaluó *in vitro* por método de difusión donde se observó la formación de zonas de inhibición de crecimiento, tabla 3. Se aprecia que existe la formación de un halo mayor en el extracto ya que este se difundió mejor a través del medio, a su vez F2 presento mucho el menor diámetro a causa de su consistencia semisólida; sin embargo es clara la actividad antibacteriana en los 3 casos.

Tabla3: Diámetros de las zonas de inhibición (media ± SD)

Evaluación de actividad antibacteriana In vitro		
Muestra	Diámetro mm	SD
Extracto	25.5	1.91
F1	23.25	2.3
F2	20.5	4.2

Los resultados de la evaluación de la actividad analgésica mostraron un efecto anestésico, ya que antes del tratamiento los roedores presentaban al estímulo: contracción muscular y retracción de la cola; posterior a la aplicación de las formulaciones mostraron una respuesta nula al dolor lo que demuestra así un efecto antinociceptivo.

CONCLUSIONES

Los extractos etanólicos de *Heliopsis longipes* contienen una gran cantidad de alcaloides con propiedades antibacterianas y anestésicas que fueron probadas en modelos animales e *in vitro*, con resultados positivos, además que al ser dosificadas en un gel mucoadhesivo puede realizar una liberación controlada de estos principios activos, las pruebas fisicoquímicas realizadas a las formulaciones dosificadas y al extracto demostraron que una considerable estabilidad en diferentes condiciones.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo recibido por el departamento de farmacia de la DCNyE así como de los directivos de la ENMSI.

REFERENCIAS

[1] García A., Ramírez E. & Molina J. (2004). El género *Heliopsis* (Heliantheae; Asteraceae) en México y las alcanidas presentes en sus raíces Acta Botánica Mexicana, núm. 69, diciembre, pp. 115 – 131

[2] Cilia L. V., Aguirre R. R., Reyes A. J. & Juárez F. B. (2008). Etnobotánica de *Heliopsis longipes* (Asteraceae: Heliantheae). Boletín de la Sociedad Botánica de México, núm. 83, pp. 81-87

[3] Cilia L. V., Juárez F. B., Aguirre R. R., & Reyes A. J. (2009). Analgesic activity of *Heliopsis longipes* and its effect on the nervous system. *Pharmaceutical Biology*, 48:2, pp. 195-200, DOI: 10.3109/13880200903078495

[4] Ríos M., Aguilar G. A. & Gutiérrez M. C. (2006). Analgesic activity of affinin, an alkalamide from *Heliopsis longipes* (Compositae). Article in *Journal of Ethnopharmacology*. DOI: 10.1016/j.jep.2006.09.041

[5] Aslani A., Ghannadi A. & Najafi H. (2013) Design, formulation and evaluation of a mucoadhesive gel from *Quercus brantii* L. and *coriandrum sativum* L. as periodontal drug delivery. *Advanced Biomedical Research* | April - June 2013 | Vol 2 | Issue 2. DOI: 10.4103/2277-9175.108007

[6] Molina T. J. & Garcia C. A. (2001) Alcanidas en plantas: distribución e importancia. *Avance y Perspectiva* vol. 20, noviembre-diciembre. pp. 377-387

[7] Lasa I., Del Pozo J. L., Penades j. R. & Leiva J. (2005) Bacterial biofilms and infection. *Anales Sis San Navarra* vol.28 no.2 Pamplona may./ago pp. 163-175.