

Desarrollo de un método de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) para la separación y cuantificación de diosgenina en un extracto del fruto iguaraya de la planta Cardón Guajiro (*Stenocereus griseus*)



Profesor Emerson Eliecer León Ávila
Grupo de Investigación INQA - Química Farmacéutica
Universidad El Bosque



INTRODUCCIÓN



La comunidad indígena Wayuú (La Guajira, Colombia), ha tratado enfermedades de tipo gastrointestinal con infusiones de la iguaraya, un fruto de la planta cardón guajiro. Teniendo en cuenta que un buen número de saponinas poseen propiedades antiinflamatorias, el presente trabajo estudia la diosgenina, una saponina que puede estar presente en un extracto de la pulpa del fruto, desarrollando un método validado de separación y cuantificación del analito por medio de cromatografía líquida de alta resolución con un detector UV-VIS.

CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA



METODOLOGÍA

La planta se recolectó en la ranchería Laachon del corregimiento de Mayapo, perteneciente al municipio de Manaure, La Guajira-Colombia.

Liofilización y maceración dinámica de la pulpa del fruto con diferentes solventes como metanol, etanol, acetona y diclorometano.

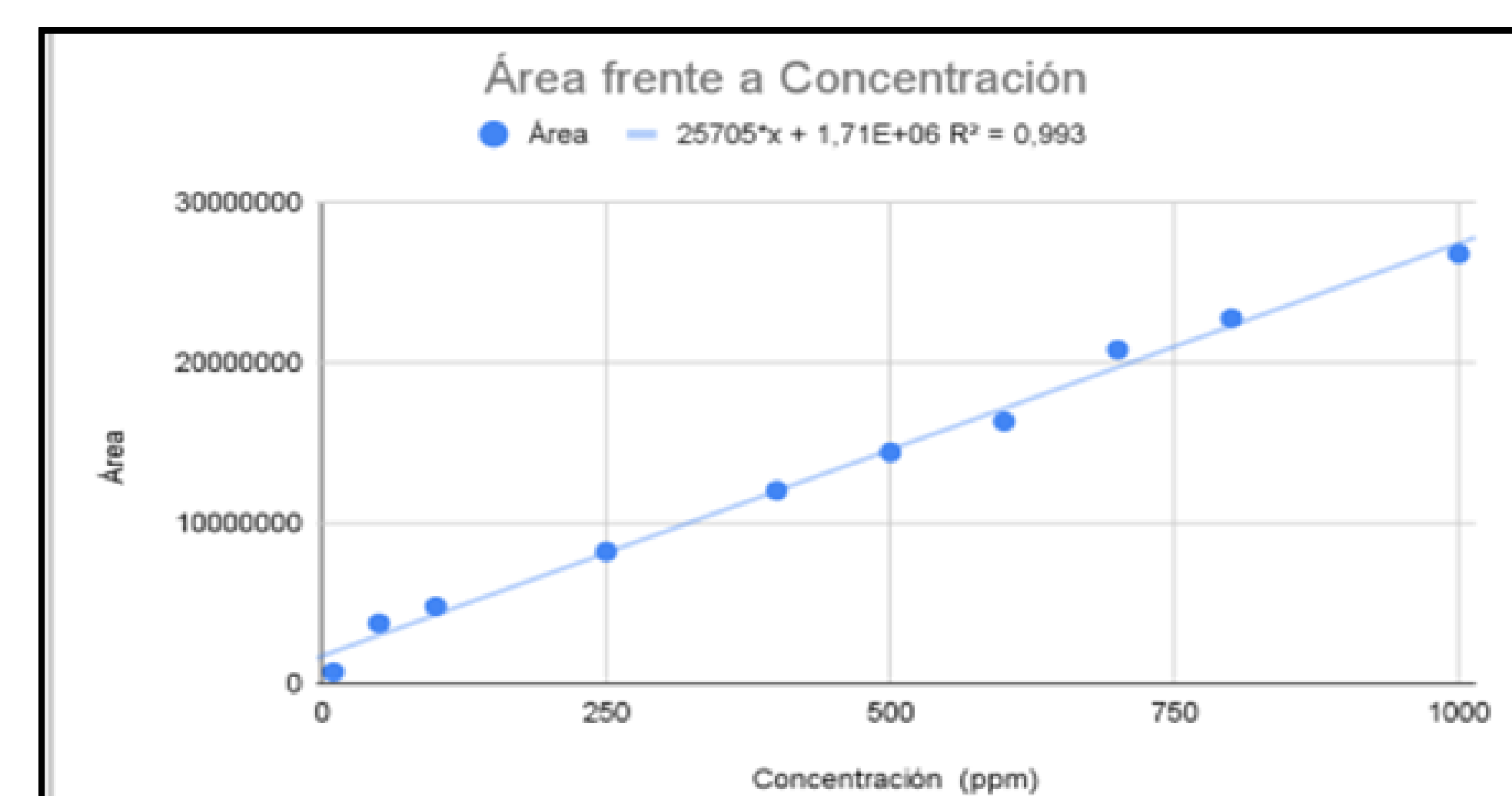
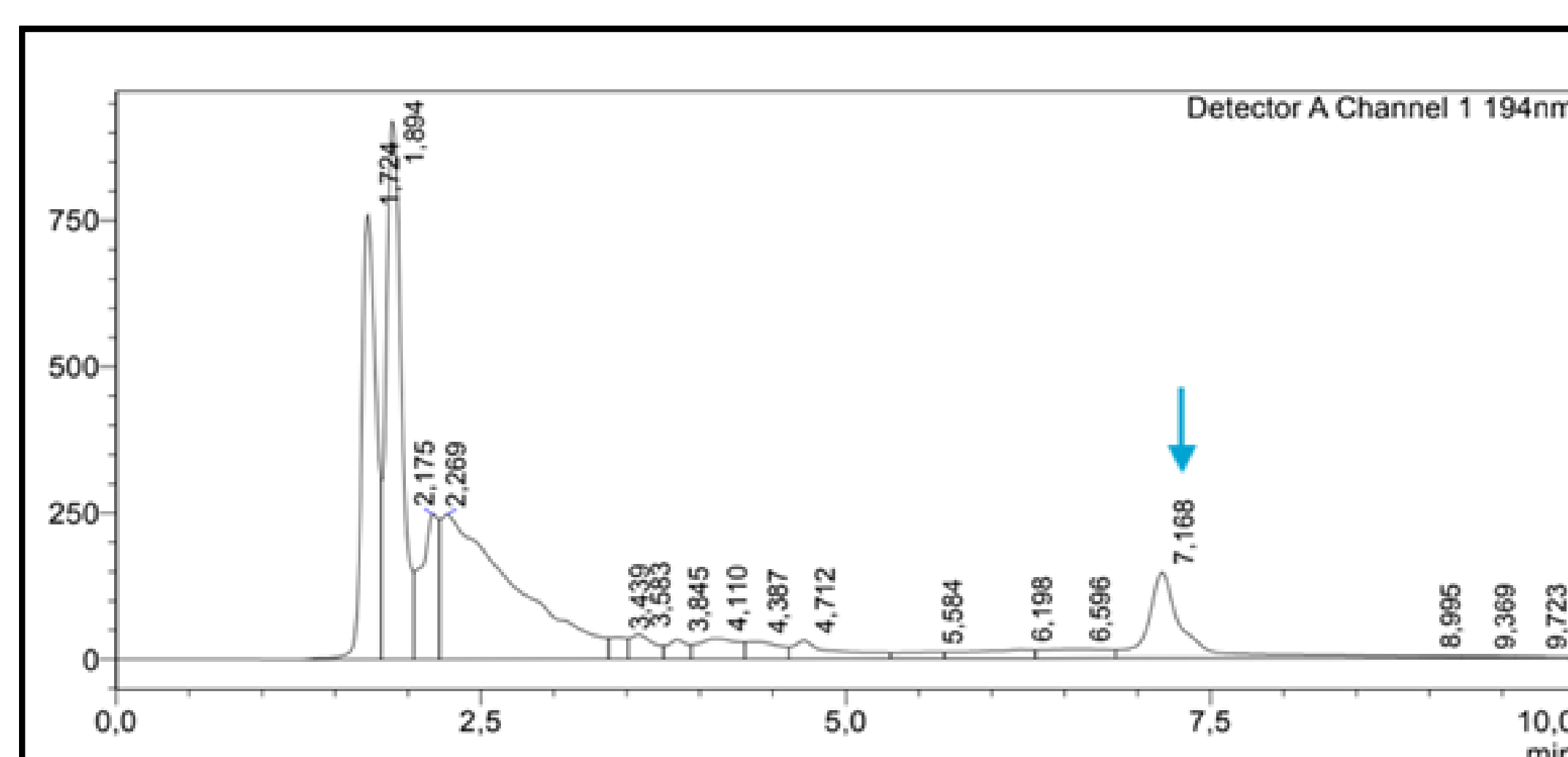
Determinación de las condiciones cromatográficas para separar y cuantificar la diosgenina de la matriz resultante.

Elaboración de curva de calibración con patrón de referencia (5 ppm a 800 ppm) marca TRC Canadá y posterior validación del método de separación.

RESULTADOS

Flujo	1 mL/min
Volumen de inyección	10 µL
Fase móvil	90:10 ACN: Agua
Fase estacionaria	Columna Ultra AQ C18
Tiempo de análisis	10 min
Detector	UV- VIS a 194 nm
Temperatura	35°C

Tabla 1. Condiciones establecidas en el desarrollo del método cromatográfico.



- Para la extracción de diosgenina en la pulpa de la iguaraya, la mayor intensidad obtenida fue dada por el extracto tratado con metanol. Según la curva de calibración, la concentración del analito de estudio fue de 36,36 ppm.
- La precisión se midió por medio de la repetibilidad, se encontró un RSD de 0,77%, según la guía ICH Q2, RSD menor al 2% se considera aceptable, por lo que se puede deducir que el método tiene repetibilidad.
- La exactitud se determinó por medio del porcentaje de recuperación para tres concentraciones. El valor calculado para $t_{exp}=1,94$, fue comparado de acuerdo con las tablas de t de student para $n-1= 8$ grados de libertad, con el 95% de confianza. Para este caso, $t_{experimental}=1,94$ es menor que $t_{tabulada}= 2,31$, por lo que se puede inferir que el método es exacto para dicho nivel de confianza.
- Para la robustez se sometió las muestras a ensayos de degradación forzada, tales como hidrólisis alcalina, hidrólisis ácida y oxidación. Se determinó que el método no es robusto frente a dichas variaciones.
- Se obtiene un LOD de 0,66 ppm y un LOQ de 2,44 ppm.

CONCLUSIONES

- En cuanto a la separación y cuantificación de diosgenina por cromatografía líquida de alta eficiencia, se determinó que en fase reversa y con las condiciones adecuadas se puede lograr obtener resultados con sensibilidad, exactitud, precisión y robustez.
- Se encontró que el extracto con metanol de la pulpa de la iguaraya contiene una concentración de diosgenina de 36,36 ppm.
- Cabe aclarar que es necesario adelantar estudios de elucidación estructural del analito aislado para verificar la presencia del mismo

BIBLIOGRAFÍA

