

Extracto añejado de ajo, microbiología y evaluación de ajoeno

Di Fabio, A.; D'Alessandro, F.; Pilegrina, M.; Galfre, E.; Korman, M.

Facultad de Farmacia y Bioquímica - UMaza
adifabio@umaza.edu.ar

Resumen

La aliina es el compuesto que se encuentra en mayor proporción en el ajo y constituye el sustrato para que la aliinasa una vez liberada de su compartimiento intracelular por daño o lisis, la transforme en alicina, ésta se modifica rápidamente y va formando compuestos de azufre inestables hasta llegar a productos de mayor duración como ajoeno y viniloditiinas.

Los extractos macerados y añejados en agua y alcohol, agua acidulada y aceite contienen dialil sulfuros, vinilditiinas y ajoeno más activos que la alicina, con acción hipocolesterolemia, hipolipemiente e hipoglucemiente. Han mostrado bajar los niveles de colesterol y triglicéridos séricos a través de la inhibición de su biosíntesis en el hígado y la oxidación de lipoproteínas de baja densidad. En el presente trabajo se formularon extractos de ajo trozado y colocados para el añejamiento en diferentes vehículos, exponiendo el ajo en tiempos diferentes, un mes y 24 meses. Se colocó en envases de vidrio y añejo 2 años. Cumplido ese tiempo se evaluó ajoeno por HPLC, los resultados fueron los siguientes: M1 agua y alcohol: 18,8ppm; M2, agua y alcohol: 1,45ppm; M3 agua y ácido acético: 28,19ppm; M4 agua y ácido acético: 2,68ppm; M5, aceite: 9,26ppm; M6 aceite: 24,94ppm. Los extractos se analizaron bacteriológicamente con resultados satisfactorios. Se formuló una suspensión bebible, en base a una dosis diaria de extracto: 7,2 gr.

Objetivos

- Desarrollar un protocolo de desinfección de dientes
- Preparar extracto añejado de ajo: en aceite; en agua + ácido acético; agua + alcohol, estacionar 24 meses, dando lugar a las reacciones químicas necesarias para obtener dialil-disulfuros, 6Z- y 6E- ajoenos y viniloditiinas.
- Cuantificar mediante HPLC ajoeno
- Formular un fármaco estandarizado.

Lavado. Variantes: Lavandina 1% y 5%; H2O2 10 Vol.; Alcohol 70 %; Testigo 1 lavado con agua corriente y Testigo 2 sin lavar.

Formulación de extractos. Los dientes trozados se colocaron en los siguientes vehículos: 1) agua + alcohol; 2) agua + ácido acético; 3) aceite.

Cuadro 1. Formulación de extractos

Extracto	1	1'	2	2'	3	3'
Ajo grs.	860	860	1.000	1.000	1.000	1.000
Vehículo	Agua: 860cc Alcohol: 860cc	Agua: 860cc Alcohol: 860cc	2lts de agua/ a. acético	2lt de agua/ Á. acético	2lts aceite: grasol	2lts aceite: grasol
Fecha inicio	31/03/06	31/03/06	31/03/08	31/04/06	31/03/06	31/03/06
Filtrado	01/04/06	19/02/08	19/02/08	08/04/06	08/04/06	19/02/06
Tiempo añejado	01/04/08	01/04/08	01/04/08	01/04/08	01/04/08	01/04/08

Extracto añejado de ajo, microbiología y evaluación de ajoeno (continúa)

Facultad de Farmacia y Bioquímica - UMaza
adifabio@umaza.edu.ar

Análisis microbiológicos

Método 1. Clostridios sulfito reductores, siembra en agar Clostridios sulfito reductores muestra inactivada 35° C/7 días.

Método 2. Clostridios sulfito reductores, siembra en agar para Clostridios sulfito reductores, muestra siembra directa 35° C/ 7 días.

Método 3. Recuento de mesófilos anaerobios y anaerobios facultativos, siembra en agar PCA a 35° C/ 96h en anaerobiosis.

En el cuadro 2 se observan los resultados, altamente satisfactorios.

Cuadro 2. Cantidad de unidades formadoras de colonias/ ml.

Nº extracto	1. Agua y alcohol	2. Agua y alcohol	3. Agua con a. acético	4. Agua con ac. acético	5. Aceite	6. Aceite
Mét. 1	< de 1ufc esporas/ml	< de 1ufc esporas/ml	< de 1ufc esporas/ml	< de 1ufc esporas/ml	< de 1ufc esporas/ml	< de 1ufc esporas/ml
Mét. 2	< de 1 ufc/ml	< de 1 ufc/ml	< de 1 ufc/ml	< de 1 ufc/ml	< de 1 ufc/ml	< de 1 ufc/ml
Mét. 3	40 ufc/ml	6ufc/ml	< de 1 ufc/ml	< de 1 ufc/ml	< de 1 ufc/ml	< de 1 ufc/ml

Los extractos obtenidos son aptos para la elaboración de Formulaciones terapéuticas.

Análisis cuantitativo

Mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) se determinó la cantidad presente de ajoeno. En el cuadro 3 se detallan los resultados:

Cuadro 3. Cantidad de Ajoeno ppm.

Muestra	1. H ₂ O y ol.	2. H ₂ O y ol.	3. H ₂ O acid.	4. H ₂ O acid.	5. Aceite	6. Aceite
Ajoeno	18,83ppm	1,45ppm	28,19ppm	2,68ppm	9,26ppm	24,94ppm

Determinaciones realizadas por Lic. Verónica Carolina Soto, Laboratorio de Análisis de residuos tóxicos. FCA. UNC.

Preparación de una formulación estandarizada

De acuerdo a las normativas establecidas ANMAT disposición n° 4854/96, Régimen de BPI en Estudios de Farmacología Clínica.

Formulación de suspensión bebible de extracto añejado de ajo

Dosis diaria de extracto: 7,2 gr.

Componentes: Extracto de ajo; Aceite fijo; Antioxidante: BHA, BHT; Agente suspensor: sílica gel micronizada; Saborizante (liposoluble): esencia de limón.

Regulación jurídica de las biotecnologías

Para realizar investigaciones de farmacología clínica se debió contar con la autorización a ANMAT, Disposición 5330/97.

Documentación:

- Declaración jurada por la cual el investigador se compromete a respetar la letra y el espíritu de las declaraciones de Nüremberg, Helsinki y Tokio, respetando el derecho del paciente y proteger a los sujetos en experimentación clínica.
- Autorización del Comité de docencia e investigación del centro adonde se realiza el estudio.
- Autorización de un Comité de Ética independiente.

Publicaciones

1. Comunicación y difusión

a). Di Fabio, A.; D' Alejandro, F.; Flores, D.; Korman, M. Obtención de extractos Añejados de ajo con actividad terapéutica. X Curso taller sobre Producción, Comercialización e Industrialización de ajo. 10 de junio de 2007. INTA La Consulta. Resumen de reunión. Pág. 216-217.

b). Di Fabio, A; D' Alejandro, F.; Korman, M. Extracto Añejado de Ajo, Microbiología y Evaluación de Ajoeno. Seminario 2008. Documento interno. Resumen Proyecto INTA 1125. 2008. Pagina 45-46.

c). Di Fabio, A; D' Alejandro, Galfre E.y Korman M. Informe final Extracto Añejado de Ajo, Microbiología y Evaluación de Ajoeno. Documento interno 2006-2009. Informe final PNHFA 1125. Pagina 78-79.

Becarios

Chicón, N.; Provenzano A.; Lombardo M.; Tomera F.; Ferraro I. Korman M.