



ANÁLISIS DISCRIMINATORIO (PCA Y PLS-DA) DE POBLACIONES ACTIVAS E INACTIVAS DE *GALPHIMIA GLAUCA* CON RELACIÓN A SUS ACTIVIDADES SEDANTE Y ANSIOLÍTICA, Y SU PERFIL METABOLÓMICO

Alexandre Cardoso-Taketa¹, Rogelio Pereda-Miranda², Young Hae Choi³, Robert Verpoorte³,
Ma. Luisa Villarreal-Ortega¹

¹Laboratorio de Plantas Medicinales, Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Teléfono: 329 7057, Fax 329 7030. ²Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. ³Instituto de Biología, Universidad de Leiden, Holanda.
Correo electrónico: ataketa@uaem.mx, luisav@cib.uaem.mx

Palabras clave: *Galphimia glauca*, metabolómica, *in silico*

Introducción. El uso de herramientas modernas de análisis en bioinformática, como es el caso de la metabolómica, ha abierto una nueva posibilidad de abordaje para el estudio de los extractos vegetales. Este enfoque único contempla un análisis integral de los metabolitos presentes en un extracto de una planta, de manera a romper con los paradigmas establecidos en la fitoquímica clásica. La metabolómica se presenta como un objeto innovador de análisis en que se puede caracterizar poblaciones de plantas en función del flujo final de la expresión fenotípica, que son sus metabolitos. A través de un análisis global de los extractos crudos metabólicos de *G. glauca* recolectada en diferentes localidades de la república Mexicana, fue posible observar la discriminación entre poblaciones activas e inactivas de la planta en términos de sus actividades ansiolítica y sedante. El perfil metabolómico de los extractos crudos de *G. glauca* se obtuvo a partir del análisis multivariado empleando el "Análisis del Componente Principal - PCA" de los registros de resonancia magnética nuclear de protones (RMN ¹H). El análisis discriminador empleado, que relacionó las actividades neurofarmacológicas con el perfil metabolómico, se realizó a través del modelado de regresión de los mínimos cuadrados (PLS-DA)¹.

Metodología. Se recolectaron individuos de *G. glauca* en 6 distintas localidades de México: Doctor Mora, Gto. (GM); Jalpan de Serra, Qro. (QJ); Guadalajara, Jal. (JG); Cuernavaca (MC), San Andrés de la Cal (MS), y Tepoztlán (MT), Mor., con un mínimo de 6 individuos por sitio de recolección, lo que resultó un total de 39 muestras. Se prepararon extractos, a partir de hojas, en disolvente deuterados para el registro de ¹H RMN (500 MHz; Bruker). Los espectros de RMN se integraron automáticamente a un intervalo de 0.02 ppm a través del programa AMIX (v. 3.7, Bruker Biospin). Los análisis multivariados de PCA y de regresión PLS-DA se obtuvieron con el programa SIMCA-P+ (v. 11, Umetrics). Las evaluaciones ansiolítica y sedante se realizaron empleando los modelos de la cruz elevada y de

potenciación de hipnosis con pentobarbital, respectivamente.

Resultados y discusión. Únicamente los extractos crudos de las poblaciones GM y QJ se mostraron activos en los modelos de ansiedad y sedación. Las señales de RMN ¹H de las galfiminas y del ácido 1,3,4,5-tetra-O-galloilquínico fueron cruciales en la diferenciación de las poblaciones GM y QJ de las demás, siendo que la diferenciación entre GM y QJ, en PC-2, fue causada también por la presencia de señales correspondientes a la presencia de análogos de la quercetina. El análisis PLS-DA permitió observar una máxima discriminación de las poblaciones activas e inactivas en relación al perfil metabolómico de los extractos analizados. El modelado PLS-DA presentó para el ensayo de ansiedad valores de variancia (R²) de 0.98 y de habilidad predictiva (Q²) de 0.96; y para el ensayo de sedación se obtuvo una R²= 0.96 y Q²= 0.64. Estos resultados validaron el modelo utilizado.

Conclusiones. El análisis espectroscópico de RMN ¹H de los 39 extractos crudos y el análisis PCA permitieron generar un perfil metabolómico en que las señales de las galfiminas fueron diagnosticas en la diferenciación de las poblaciones activas e inactivas en términos de las actividades ansiolítica y sedante, lo que se confirmó con el análisis PLS-DA. Estos resultados evidencian la efectividad del modelo multivariado de predicción para el análisis *in silico*, y ponen de manifiesto la necesidad urgente de estandarización de productos herbolarios empleando procedimientos de análisis específicos como la metabolómica

Agradecimiento. Los autores agradecen el apoyo PROMEP por el financiamiento del proyecto otorgado al Dr. Taketa en 2006, y al proyecto CONACYT 80980

Bibliografía¹. Cardoso-Taketa, A, Pereda-Miranda, R, Villarreal, ML. (2008). Metabolomic profiling of the mexican anxiolytic and sedative plant *Galphimia glauca* using NMR spectroscopy and multivariate data analysis. *Planta Med.*74: 1-7.