



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**DESARROLLO DE CREMAS CON ACEITES ESENCIALES  
CON ACTIVIDAD ANTIMICOTICA**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**PRESENTA**

**HORTENSIA ORTIZ GONZALEZ**



**MÉXICO, D.F.**

**Mayo 2009**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Profesor: NORMA TRINIDAD GONZALEZ MONZON

**VOCAL:** Profesor: CAROLINA MUÑOZ PADILLA

**SECRETARIO:** Profesor: ERNESTINA HERNANDEZ GARCIA

**1er. SUPLENTE:** Profesor: BLANCA ESTELA RIVERO CRUZ

**2° SUPLENTE:** Profesor: IVAN ALEJANDRO FRANCO MORALES

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:** INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA,  
TORRE DE INVESTIGACIÓN "JOAQUIN CRAVIOTO"

**ASESOR DEL TEMA:** M. EN F. ERNESTINA HERNANDEZ GARCÍA

(nombre y firma)

**SUPERVISOR TÉCNICO (Si lo hay):** QFB FRANCISCA TRIJILLO JIMÉNEZ

(nombre y firma)

**SUSTENTANTE (S):** HORTENSIA ORTIZ GONZÁLEZ

(nombre (s) y firma (s) )

# **AGRADECIMIENTOS**

## AGRADECIMIENTOS

### AGRADECIMIENTOS

Definitivamente Dios mi Señor, mi Guía, mi Proveedor, mi Fin  
Ultimo, sabes lo esencial que has sido en mi posición firme de alcanzar  
esta meta, esta alegría, que si pudiera hacerla material, la hiciera para  
entregártela, pero a través de esta meta, podré siempre de tu mano  
alcanzar otras cosas y acciones que serían buenas a tus ojos.

Gracias Señor por todo lo que me has dado,

Gracias por los días de sol y los nublados tristes, por las horas tranquilas y por las  
inquietas horas oscuras, por las penas y las alegrías, por la sonrisa amable, y la mano  
amiga, por el amor y todo lo hermoso y dulce

Por haberme dejado vivir...

**¡Gracias Dios mío!**

## AGRADECIMIENTOS

**A mi familia**, que con amorosa paciencia, y entregándome su incondicional apoyo, me han acompañado en cada etapa de mi vida. No es fácil llegar se necesita ahínco, lucha y deseo, pero sobre todo apoyo como el que he recibido durante este tiempo, ahora mas que nunca se acredita mi cariño admiración y respeto.

\* **A mi Madre** (Socorro) que aunque partió tempranamente de esta vida, su esencia me invade, pues su lección de vida y lucha ante la adversidad continua, pues fueron la ruta (la luz) que resulta hoy camino.

Gracias madre porque aunque no pueda verte, se que siempre has estado conmigo, compartiendo cada minuto de la vida que vertiste en mi. Soy tu hija, soy tu niña: soy tú. Siempre serás inspiración para alcanzar mis metas. Que Dios te bendiga.

\* **A mi Padre** (Germán), por su paciencia, por su comprensión, trabajo y desvelos, por todo el tiempo que le robe pensando en mi... Gracias. Como un testimonio de cariño y eterno agradecimiento por mi existencia, valores morales y estímulos brindados con infinito amor y confianza.

\* **A mis Hermanos:** César, Benito, Guadalupe, Sandra, Miriam y Vidal, por que han de saber que este triunfo es de ustedes, Gracias por su mirada y oído siempre atentos, y su mano siempre puesta para ayudarme, nunca será en vano. Por que gracias a su cariño, guía y apoyo he llegado a realizar uno de los anhelos más grandes de mi vida, sabiendo que jamás existirá una forma de agradecer en esta vida de lucha y superación constante, deseo expresarles que mis ideales, esfuerzos y logros han sido también suyos.

**A mis Amigas** (Rocío, Adalith, Bety, Marú, Vanne, Selene) con quienes compartí muchas horas de estrés y de alegría durante el trayecto por la H. Facultad de Química.

Y a todos aquellos que han quedado en los recintos, más escondidos de mi memoria, pero que fueron partícipes de cincelar a Hortensia Ortiz González.

Gracias a Todas aquellas personas que han creído en mi.

## AGRADECIMIENTOS

A mi **Maestra directora de Tesis y consejera Ernestina Hernández García**. Pocas palabras encuentro para poder expresarle mi gratitud por creer incondicionalmente en mí y por permitirme el honor de aprender, convivir y trabajar con usted. Gracias.

A la **Q.F.B. Francisca Trujillo Jiménez**. Por todos sus consejos, su apoyo y confianza, durante mi servicio social y el desarrollo de este proyecto. Agradezco a Dios por su presencia en mi camino. Con toda mi admiración y respeto, Gracias.

A la **Maestra Norma Trinidad González**. Por su valioso tiempo y disponibilidad para ayudarme a finalizar este trabajo. Gracias.

A la **Maestra Carolina Muñoz**, Por todo el apoyo que me brindo para poder finalizar este trabajo, por sus valiosos consejos, por todo el tiempo dedicado a la revisión de esta tesis. Gracias.

A la **Universidad Nacional Autónoma de México**, por ser el recinto donde pude cumplir mi anhelo, desarrollarme como una profesionista, para poder ofrecer algo más a este hermoso país.

A la **Facultad de Química**, porque en mi memoria se han cincelado los recuerdos del lugar donde viví, aprendí y crecí como persona y profesionista. Gracias por brindarme sus instalaciones para desarrollarme como una QFB.

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>3</b>
<b>CAPITULO 1</b>	
<b>ANTECEDENTES</b> .....	<b>5</b>
<b>1.1 La piel</b> .....	<b>6</b>
1.2 La dermatofitosis un problema de salud.....	7
1.2.1 Frecuencia de la dermatofitosis en México.....	7
1.2.2 Clasificación endémica de los dermatofitos.....	8
1.2.3 Clasificación y frecuencia geográfica en el cuerpo humano.....	8
1.2.3.1 Tiña de las manos.....	8
1.2.3.2 Tiña de la ingle.....	8
1.2.3.3 Tiña de la cabeza.....	8
1.2.3.4 Tiña del cuerpo.....	9
1.2.3.5 Tiña de las uñas.....	9
1.2.3.6 Tiña de los pies.....	9
1.2.4 Exámenes del laboratorio para diagnóstico.....	10
1.2.5 Tratamiento General.....	10
1.3 Alternativa del tratamiento contra la dermatofitosis.....	13
1.4 Aceites Esenciales.....	13
1.4.1 Usos de los aceites esenciales y esencias.....	14
1.4.2 Propiedades Físicas.....	14
1.4.3 Composición química.....	14
1.4.4 Control de calidad.....	15
1.4.5 Propiedades farmacológicas.....	15
1.4.6 Toxicidad.....	16
1.4.7 Carcinogénesis.....	16
1.5 Aceites Esenciales con actividad antimicótica.....	16



1.5.1 Aceite esencial de Manuka.....	17
1.5.2 Aceite esencial esencial del árbol de Té.....	18
1.5.3 Aceite esencial de Lavanda.....	19
1.5.4 Aceite esencial de Tomillo.....	20
1.6 Emulsión.....	22
1.6.1 Tipos de emulsión.....	22
1.6.2 Componentes de una emulsión.....	23
1.6.3 Formulación según el método HLB.....	23
1.6.4 Clasificación de los agentes emulsificantes.....	23
1.6.5 Elaboración General de una emulsión.....	24
1.6.6 Estabilidad de las emulsiones.....	24
1.6.7 Ensayos de estabilidad de las emulsiones.....	25
1.6.8 Equipos de emulsificación.....	26
1.7 Propiedades de los excipientes.....	26

## **CAPITULO 2**

<b>PARTE EXPERIMENTAL Y METODOLOGÍA.....</b>	<b>29</b>
2.1 Estudios de preformulación.....	30
2.1.1 Caracterización de principios activos.....	30
2.2 Desarrollo de la crema base.....	32
2.3 Procedimiento general de la elaboración.....	32
2.4 Desarrollo de las cremas con aceites esenciales.....	33
2.4.1 Crema con aceite esencial de Manuka.....	33
2.4.2 Cremas con aceite esencial de Manuka y TTO.....	34
2.4.3 Crema con aceite esencial de Lavanda (Provedor I y II).....	34
2.4.4 Crema con aceite esencial de Tomillo.....	35

2.4.5 Crema con esencia de Lavanda.....	36
2.4.6 Crema con esencia de Tomillo.....	36
2.5 Especificaciones del producto terminado.....	37
2.6 Determinación de las pruebas de ciclado térmico	
Probando 3 diferentes envases primarios.....	38
2.7 Pruebas de susceptibilidad antimicótica de las cremas con aceites esenciales	
Por el método de dilución en agar.....	39
2.7.1.A Aislamiento.....	39
2.7.1.B. Preparación de la muestra.....	39
2.7.1.C Evaluación de las cremas sin dilución.....	39
2.7.1.D Preparación del inóculo.....	40
2.7.1.E Inoculación de placas.....	40
<b>CAPITULO 3</b>	
<b>RESULTADOS Y ANALISIS.....</b>	<b>41</b>
3.1 Preformulación.....	42
3.2 Formulación base.....	43
3.3 Cremas con los aceites esenciales.....	44
3.4 Ciclado térmico al final.....	45
3.5 Pruebas de susceptibilidad antimicótica.....	47
3.5.1 Reproducibilidad de la susceptibilidad antimicótica.....	49
<b>CAPITULO 4</b>	
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>52</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>55</b>
A1. Propiedades fisicoquímicas de los aceites esenciales.....	56
A2. Curva de McFarland.....	57
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>58</b>

# **INTRODUCCIÓN**

El creciente reconocimiento en la importancia de las micosis superficiales causadas por: *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis*, *Epidermophyton floccosum* y *Candida albicans*; los cuales tienen entre otros, una elevada prevalencia en la población mexicana; así como las dificultades encontradas en su tratamiento con fármacos de origen sintético, tales como el desarrollo de resistencia antifúngica, los efectos secundarios provocados en el organismo por su administración oral (toxicidad en hígado, medula ósea y el riñón), el costo del tratamiento, la duración del mismo ( 6 a 12 meses), etcétera, hace que estos fármacos sigan siendo de uso limitado y por lo tanto se estimule la búsqueda de alternativas terapéuticas.

Desde las épocas más remotas, el hombre ha identificado y utilizando un número considerable de plantas y sustancias de origen diverso, con el objeto de producir un efecto farmacológico.

Las plantas superiores siguen siendo un depósito de compuestos químicos sin explorar potencialmente útiles, que podrían servir como punto de partida para análogos sintéticos y una interesante herramienta que se puede aplicar para una mejor comprensión de los procesos biológicos, en la sensibilidad de los dermatofitos a los antifúngicos.

En los últimos 20 años han comenzado a ser reconocidos por su actividad terapéutica, los aceites esenciales, y numerosos estudios documentados soportan su actividad antimicrobiana, antiparasitaria y antimicótica.

El presente trabajo, contempla el desarrollo de cremas con aceites esenciales para lo cual se seleccionaron los siguientes: Manuka, Lavanda, Tomillo, y Tea Tree. Se ha reportado que dichos aceites tienen actividad antimicótica y representan una alternativa farmacéutica en el tratamiento de las dermatofitosis.

Se propone que las cremas con aceites esenciales, sean una opción más en el tratamiento tópico de la dermatofitosis, cuando exista presencia de eventos adversos o intolerancia con la terapia oral, además de utilizar estos productos como adyuvante del tratamiento oral o bien como profiláctico, para evitar las recurrencias post-tratamiento.

La importancia del desarrollo del presente trabajo radica principalmente en la búsqueda de medicamentos alternativos, que ayuden al tratamiento de las dermatofitosis, ya que la incidencia de esta afección y la frecuencia de cepas resistentes es alta en nuestra población.

En lo que se refiere al producto terminado (cremas), se establecen características deseables, para la aceptación del paciente, así como también se verifica que tal formulación sea estable al ser sometido a ciclado térmico así como a centrifugación.

Posteriormente se realizaron pruebas microbiológicas que nos permitieron probar la efectividad de la crema contra *Trichophyton rubrum*, el cual es uno de los agentes etiológicos más frecuentes, en la dermatofitosis.

# OBJETIVOS

## OBJETIVO GENERAL

Desarrollar siete formas farmacéuticas de administración tópica (cremas) que contengan como principio activo los aceites esenciales de: Manuka (*Leptospermum scoparium*), Lavanda (*Lavandula angustifolia*) Tomillo (*Thymus pulegioides*), una combinación de Tea Tree (*Malaleuca Alternofolia*) con Manuka, y esencias de Tomillo y Lavanda, utilizando una crema base propuesta y que al integrar tales aceites esenciales y esencias a las cremas, estas, tengan características organolépticas aceptables, y representen una alternativa en el tratamiento de la dermatofitosis.

## OBJETIVOS ESPECIFICOS

- ✓ Caracterizar a los aceites esenciales propuestos, mediante la medición de parámetros propios de cada sustancia como: Densidad relativa, índice de refracción y características físicas, de tal manera que se pueda asegurar que tenemos materia prima de calidad y que cumplirán con la función antimicótica esperada.
- ✓ Verificar que la formulación base propuesta para una crema, cumpla con características organolépticas aceptables como: color, olor, apariencia física, homogeneidad y pH. Y realizar pruebas preliminares de estabilidad como: Ciclado térmico, centrifugación y almacenamiento a 40°C, que nos indiquen si la crema será estable.
- ✓ Desarrollar siete cremas que contengan los diferentes aceites esenciales propuestos como principio activo, en la concentración mínima inhibitoria al 90%, que cumplan con características organolépticas y de estabilidad deseadas.
- ✓ Determinar el tipo de material de envase primario que más convenga a la estabilidad de las cremas, para su transporte, comercialización y uso, mediante las pruebas de ciclado térmico.
- ✓ Realizar pruebas de susceptibilidad antimicótica, mediante el método de dilución en agar y la Metodología General de Análisis 0571 FEUM 8ª edición, de las cremas con aceites esenciales desarrolladas y que nos indiquen si estas cumplen con la función de inhibir el crecimiento de los dermatofitos como *Trichophyton rubrum*, el cual es uno de los agentes etiológicos mas frecuentes en México.

## **Capítulo 1.**

# **ANTECEDENTES**

## 1.1 LA PIEL

Es el órgano de mayor tamaño en el cuerpo humano, su función es proteger a todo el organismo de la pérdida de líquidos, de sustancias externas dañinas, de la radiación ultravioleta y también constituye una barrera contra microorganismos patógenos; además de modular los cambios de temperatura. Posee un delicado sistema neurorreceptor que lo relaciona con el medio ambiente y es asiento de numerosas reacciones bioquímicas que le confieren el carácter de un órgano en permanente estado de actividad. (1)

El pH de la piel varía de 4.5 a 6.5, dependiendo de la zona del cuerpo. (1)(3)

En general se constituye de tres capas: Dermis, epidermis y tejido celular subcutáneo (ver Fig.1), en las que están incluidas estructuras y anexos cutáneos importantes como son: las glándulas sudoríparas, ecrinas y apócrinas, folículos pilosos, glándulas sebáceas, vasos sanguíneos, nervios y estructuras nerviosas especializadas a si como los vasos linfáticos.

Las uñas se consideran como anexos; ya que son estructuras cornificadas especializadas, cuya función es de protección de la extremidad distal de los dedos y manipulación fina.

La piel posee un manto protector compuesta de grasas y ácidos que se renuevan constantemente protegiéndola de muchos microorganismos, entre los cuales se encuentran los dermatofitos.

Diversos factores tales como: higiene personal exagerada o deficiente, uso de jabones muy agresivos o una supresión del sistema inmune, provocan que los dermatofitos puedan instalarse en la piel y producir una infección denominada dermatofitosis también llamadas tiñas.

Los dermatofitos son hongos queratinolíticos; es decir, tiene la capacidad de digerir y utilizar la queratina como sustrato, por lo que se consideran micosis superficiales que, aunque suelen estar restringidas al estrato córneo de la piel y sus apéndices, también pueden afectar la dermis y el tejido subcutáneo causando granulomas.

Fig.1<sup>(4)</sup>

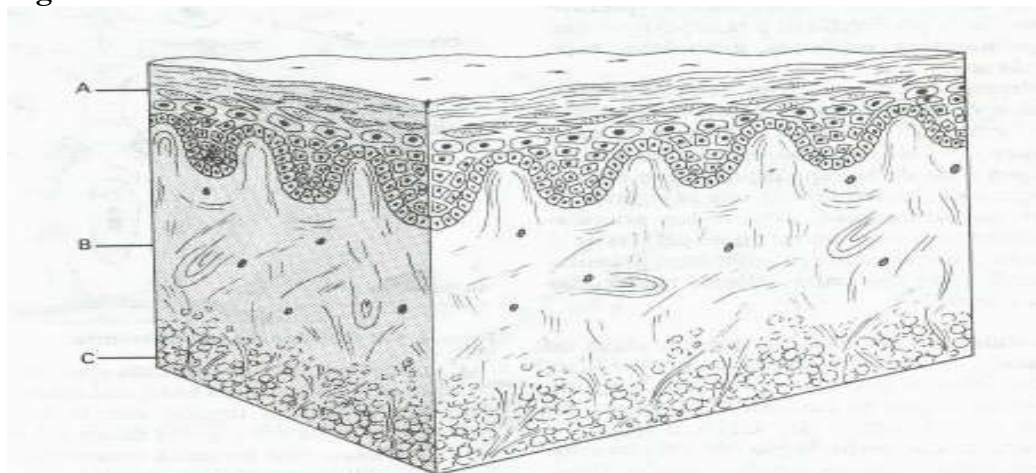


Figura 1 Capas de la piel. A epidermis. B dermis. C hipodermis



## 1.2 LA DERMATOFITOSIS UN PROBLEMA DE SALUD

Las dermatofitosis también llamadas tiñas, son micosis superficiales causadas por hongos microscópicos que tienen la capacidad de adherirse fuertemente a la membrana del estrato córneo e invadir el tejido queratinizado como la piel, el pelo y las uñas del hombre y de algunos animales (2) ((3), ocasionando cambios inflamatorios, algunos son tan severos que producen la formación de granulomas. Actualmente la falla terapéutica ante estas infecciones se ha incrementado, y se atribuye a diversas causas tales como: deficiencia inmunológica, baja biodisponibilidad de los antimicóticos, alteraciones en el metabolismo de los Antifúngicos, interacciones medicamentosas y resistencia antifúngica. (4)(10)(15)

### 1.2.1 FRECUENCIA DE DERMATOFITOSIS EN MÉXICO

Las dermatofitosis son las micosis más comunes a nivel mundial. En México constituyen entre el 70 y el 80 % de todas las micosis y se ha observado un incremento importante en el número de pacientes con dermatofitosis que presentan resistencia (del 20%) a los fármacos antifúngicos comerciales. (12) (13).

Las dermatofitosis en México tienen una frecuencia del 5% en la consulta dermatológica (13), las cuales son causadas principalmente por *Trichophyton rubrum*, *Microsporum. Canis*, *Trichophyton tonsurans*, *Epidermophyton Floccosum*, *Trichophyton mentagrophytes*. Siendo *T.rubrum* el agente causal mas frecuente en las tiñas del cuerpo. (4)(5)(7)(11)(13).

Se ha encontrado que los adultos son los mas afectados (casi el 60% entre los 20 y los 50 años) ya que están afectados a mayores factores de riesgo como el uso prolongado de zapatos cerrados y de materiales sintéticos, uso de textiles oclusivos que favorecen la sudoración profusa, existencia de algún trauma o uso excesivo de antibióticos. También en la actividad realizada, favorece la infección, como en las amas de casa que están expuestas a la humedad y al calor. Mientras que, en la infancia este tipo de afección ocupan en séptimo lugar dentro de las dermatosis. (7)(8)(9)(10)

El impacto que tienen estas infecciones sobre la salud y calidad de vida de los pacientes es considerable. Los pacientes están afectados físicamente, socialmente y/o laboralmente. Este problema es especialmente importante en dermatofitosis crónica, por que las pautas del tratamiento suelen ser prolongadas, y la terapia disponible es poco efectiva, por lo que, el consumo y el gasto sanitario de antifúngicos se ven incrementados.

Con el fin de frenar esta problemática, se ha generado el interés en desarrollar alternativas en el tratamiento de los antifúngico, por vía tópica y recurriendo al uso de compuestos de origen natural como es el caso de los aceites esenciales. (31) (34)

### 1.2.2 CLASIFICACIÓN ENDEMIKA DE LOS DERMATOFITOS.

Los dermatofitos se pueden clasificar, de acuerdo a su lugar de procedencia en: antropofílicos (aquellos que viven en el hombre y se transmite la enfermedad de una persona a otra), Zoofílicos (viven en los animales y con frecuencia pueden infectar al hombre) y geofílicos (viven en la tierra y ocasionalmente infectan al hombre. (1) (2).

Tabla 1 Clasificación Endémica de los Dermatofitos. (1)(2)(3).

<u>Antropofílicos</u>	<u>Zoofílicos</u>	<u>Geofílicos</u>
<i>Epidermophyton Floccosum</i>	<i>Microsporium canis</i>	<i>Microsporium gypseum</i>
<i>Microsporium. audouinii</i>	<i>Microsporium equinum</i>	<i>Microsporium fulvum</i>
<i>Trichophyton concentricum</i>	<i>Microsporium gallinae</i>	<i>Microsporium nanum</i>
<i>Trichophyton rubrum</i>	<i>Microsporium verrucosum</i>	
<i>Trichophyton schoenleinii</i>	<i>Trichophyton equinum</i>	
<i>Trichophyton tonsurans</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes var mentagrophytes</i>	
<i>Trichophyton mentagrophytes var. interdigitalis et var nodularie</i>		

### 1.2.3 CLASIFICACIÓN Y FRECUENCIA GEOGRÁFICA EN CUERPO HUMANO.

Según la topografía en el cuerpo humano se clasifican en (1) (2)

#### 1.2.3.1 TIÑA DE LAS MANOS.

Se presenta con una frecuencia del 2%, predomina en varones entre la tercera y cuarta décadas y es ocasionada principalmente por *Trichophyton rubrum* 80% y *Trichophyton mentagrophytes* 15%. Esta localización se manifiesta por anhidrosis e hiper-queratosis difusa de palmas y dedos, descamación pulvurenta y acentuación de los pliegues de flexión. (13)

#### 1.2.3.2 TIÑA DE INGLE

Se presenta con una frecuencia del 4% y predomina en varones en la tercera o cuarta década de vida y se debe a *Trichophyton rubrum* (85%), *Trichophyton mentagrophytes* (10%) por *Epidermophyton Floccosum* (5%). Casi siempre la tiña de la ingle se debe a una tiña de los pies de larga evolución. La morfología son placas semicirculares siempre con borde activo. En ocasiones estas placas se pueden continuar en la zona del hipogastrio o pubiana. (13)

#### 1.2.3.3 TIÑA DE CABEZA (Tinea capitis)

Se presenta con una frecuencia del 4 al 10% de las dermatofitosis, afecta principalmente a niños en la edad de 3 a 12 años, es raro en adultos. Parece ser que al llegar a la pubertad, las condiciones en la piel cambian lo que hace muy difícil que estos hongos puedan crecer. Los agentes principales son: *Microsporium canis* y *Tricophyton tonsurans*. La topografía es el cuero cabelludo. Se caracteriza por presentar placas pseudoalopécicas, esto es, con cabellos muy cortos y escamas. (7) (13)

### 1.2.3.4 TIÑA DEL CUERPO

La tiña del cuerpo se presenta con una frecuencia del 15% predominando en la tercera y quinta décadas de la vida y son ocasionadas por *Trichophyton rubrum* y *Microsporum canis*. Se localiza principalmente en tronco y extremidades, presentando una reacción granulomatosa o inflamación perivascular (2) (13).

### 1.2.3.5 TIÑA DE LAS UÑAS (tinea unguium)

La tiña de las uñas se presenta en un 30% de las dermatofitosis, se observa entre la tercera a sexta décadas de vida, afecta las uñas de los pies en un 90% y las uñas de las manos en un 10%; afecta por igual a ambos sexos, son ocasionadas por *Trichophyton rubrum* 87%, *Trichophyton mentagrophytes* 9% y también se asocia a *Candida sp* en un 2-3%. La uña se vuelve gruesa de aspecto leñoso, cambia su coloración a amarillo, gris, pierde su brillantez, se vuelve frágil y se puede despegar del lecho ungueal (onicolisis). Hay otra presentación clínica menos frecuente que se denomina onicomiosis blanca superficial. En estos casos lo que se observa son manchas blanquecinas de forma irregular en la lámina ungueal (6) (8) (13).

### 1.2.3.6 TIÑA DE LOS PIES (tinea pedis)

La tinea de los pies tiene una frecuencia del 45-52%, con predominio en varones, entre la tercera a sexta décadas de la vida. Los agentes etiológicos implicados son: *Trichophyton rubrum* en 85%, *Trichophyton mentagrophytes* 10% y *Epidermophyton floccosum* 5%. Hay varias presentaciones clínicas de la tiña de los pies entre las que tenemos: (6)(8)(13)

- **La tiña en mocasín (conocida también como pie de atleta).**

Se presenta en la planta de los pies y en los bordes como escamas finas blanquecinas. En ocasiones en los bordes hay leve eritema. Usualmente se acompaña de prurito, pero no siempre es así. En ocasiones puede presentar bastante queratosis recibiendo la denominación de Tiña queratósica.

- **Tiña vesiculosa.**

Afecta la planta de los pies y puede afectar los bordes de los pies. Las lesiones predominantes son pequeñas vesículas, pero puede haber costras y escamas. En la mayoría de los casos hay bastante prurito en pacientes que presentan una buena respuesta inmunológica a la infección por tiñas, ya que las citoquinas producidas por queratinocitos de la dermis y/o por las células de Langerhans atraídas durante el proceso inflamatorio, inducen proliferación acelerada de la piel la cual produce eliminación del hongo por descamación.

- **Tiña interdigital**

Afecta la región interdigital, hay escamas, puede haber maceración, en ocasiones puede infectar incluso el dorso de los dedos. El último espacio interdigital es usualmente afectado. (5) (9) (11) (13)

Es importante hacer notar que en la realidad pueden haber mezclas dermatofitosis de tal forma podemos tener una tiña vesiculosa con una tiña interdigital.

### 1.2.4 EXAMENES DEL LABORATORIO PARA DIAGNOSTICO

Ante la sospecha de una tiña, es necesario hacer uno o más exámenes del laboratorio. Uno es el examen directo, el cual consiste, dependiendo de la zona afectada, en tomar escamas, pedazos de uñas o cortar el cabello y colocarlos sobre un porta y cubre objetos, con solución de hidróxido de potasio (KOH) al 20% y esperar unos minutos para verlo al microscopio buscando las hifas. El hidróxido de potasio hidroliza la queratina y las hifas se pueden visualizar mejor. (2) (13).

Otro método, consiste en cultivar la muestra en medio Agar Sabouraud e incubar entre 14 y 28 días. Una vez que el hongo ha crecido se toma una muestra del cultivo, se coloca en un portaobjeto, se fija, para observar al microscopio y determinar el género y la especie dependiendo de la estructura morfológica del hongo.

Para tiña de la cabeza se puede ocupar la luz de Wood. La luz de Wood es una luz ultravioleta de 360 nm y ante esta longitud de onda algunos dermatofitos muestran fluorescencia. (1) (7)

### 1.2.5 TRATAMIENTO GENERAL

Una vez que se ha confirmado la infección superficial por dermatofitos, es importante recalcar que el diagnóstico clínico presuntivo debe confirmarse con el estudio micológico para poder iniciar un tratamiento, ya que la curación espontánea es improbable.

La diversidad de los agentes antifúngicos disponibles en la terapéutica es mucho menor que la de los antibacterianos, debido a que las infecciones bacterianas eran consideradas más importantes que las desarrolladas por hongos (4). En los últimos años, el número de casos de micosis con falla terapéutica se ha incrementado en el mundo, lo cual es atribuible a una deficiencia en la función inmunológica, baja biodisponibilidad de los fármacos antimicóticos, interacciones medicamentosas y resistencia antifúngica primaria o secundaria.

La clasificación de los antifúngicos se realiza según criterios relativos a su estructura y características químicas, también pueden ser clasificados de acuerdo a la zona en la que se ha producido la infección fúngica y la extensión. (1)(2)

Otra manera de clasificarlos es de acuerdo a su mecanismo de acción, efecto, vía de administración y toxicidad, como se resume en la tabla .2 (15) (16) (17)

Tabla 2. Fármacos antimicóticos mas frecuentes utilizados en el tratamiento de dermatofitosis.(15) (16) (17) (18)

FÁRMACO	VÍA DE ADMINISTRACIÓN	MECANISMO DE ACCIÓN	EFFECTIVIDAD	DESVENTAJAS
<b>Azoles</b>				
Clotrimazol	Tópico al 1%	Los azoles inhiben la actividad de la enzima 14- $\alpha$ -desmetilasa bloqueando la desmetilación del lanosterol a ergosterol, componente principal de la membrana celular de los hongos. Como consecuencia de ello, se altera la membrana celular y se acumulan compuestos no desmetilados que inhiben el crecimiento fúngico	60%	Por vía oral, su absorción es errática y provocan alteración secundaria en la síntesis de hormonas esteroideas. Se metabolizan en el Hígado y puede producir elevación de enzimas hepáticas. Presenta muchas interacciones farmacológicas al inhibir el citocromo p450. Por vía tópica, puede presentar reacciones alérgicas.
Ketoconazol	Tópico 2%, gel o polvo.		60%	
Miconazol	Tópico al 0.87%, loción, crema al 2% o en polvo.		60%	
Itraconazol	Oral (100mg/día)		25-40%	
Fluconazol	Oral (100 A 150mg/día)			
Tolnaftato	Tópico		80%	
Tiabendazol	Tópico		NR	
Bifonazol	Tópico 1%		75-100%	
Tioconazol	Tópico 2%		73%	
Miconazol	Tópico 2%		75-100%	
Eberconazol	Tópico 1%	90%		
<b>Alilaminas</b>				
Terbinafina	Tópica al 1%	Inhiben la formación del ergosterol, inhibiendo la enzima escualeno epoxidasa.	90%	Alteración hepática y efectos secundarios cutáneos en forma de toxicodermia que puede llegar a necrosis epidérmica toxica.
Naftifina	Tópica al 1%			
<b>Derivados de morfolina</b>				
Amorolfilina	Laca de uñas al 5%	Actúan bloqueando la producción del ergosterol e inhibiendo la enzima 14- $\alpha$ -reductasa y la 7-delta-8-isomerasa.	90%	Sensación de quemazón, prurito, eritema y descamación locales y algunos casos de dermatitis

FARMACO	VIA DE ADMINISTRACIÓN	MECANISMO DE ACCIÓN	EFFECTIVIDAD	DESVENTAJAS
<b>Piridona</b>				
Ciclopirox	Tópica al 8%	Actúa inhibiendo la absorción de iones de potasio, fosfatos y aminoácidos.	61-90%	Irritación local, urticaria
<b>Otros antimicóticos</b>				
Griseofulvina	Oral (10 a 20mg/Kg de peso))	Interrumpe la metafase de la división celular. Enroscamiento de las hifas	90%	Exantema, trastornos gastrointestinales, sequedad de la boca y pérdida temporal del sabor, cefaleas. También reacciones alérgicas en forma de urticaria, eritema y fotosensibilidad.

NR: No Reportado

La efectividad de la terapia antimicótica varia según el compuesto utilizado, siendo la tasa de curación del 60 al 90%, y dentro de los factores que influyen en la efectividad del tratamiento es importante mencionar que, algunos dermatofitos se han vuelto resistentes a los imidazoles; o la duración del tratamiento antimicótico no es el adecuado; o la dosis en el tratamiento no es la adecuada; hay sitios donde es más difícil que el antimicótico llegue como es el caso de las uñas. (3)

### **1.3 ALTERNATIVA DE TRATAMIENTO CONTRA LA DERMATOFITOSIS**

La resistencia de los dermatofitos a los fármacos antimicóticos empleados actualmente, la toxicidad de ellos y muchas veces su elevado costo, ha fomentado una búsqueda intensa de moléculas nuevas obtenidas por síntesis o bien desde fuentes naturales. Tal es el caso de la investigación en plantas y sus derivados, como lo son los aceites esenciales; la cual se realiza en muchas partes del mundo con resultados muy promisorios (51)

Desde hace muchos años, existen antecedentes del uso de los aceites esenciales en forma empírica, pero ahora esta información es soportada con estudios científicos que demuestran la conveniencia de desarrollar un producto de calidad, de fácil aplicación, en una presentación farmacéutica, adaptada al tratamiento de la dermatofitosis (19)

La propuesta que se plantea en el presente trabajo, es una nueva alternativa en el tratamiento de estos padecimientos. Se propone utilizar como principio activo aceites esenciales en cremas de uso tópico para ser utilizadas en este tipo de padecimientos.

### **1.4 ACEITES ESENCIALES**

Son una mezcla de sustancias químicas biosintetizadas por las plantas, que presentan como características principales su compleja composición y su carácter fuertemente aromático (refiriéndonos al termino aroma y no al concepto químico de aromaticidad), los cuales pueden ser extraídas bien por arrastre de vapor, o bien por procedimientos mecánicos.

Los aceites esenciales se encuentran únicamente en vegetales superiores, y puede almacenarse en todos los órganos de la planta, por ejemplo: flores, hojas, cortezas, raíces, frutos o semillas. Cuantitativamente, los contenidos en aceite esencial son más bien bajos, frecuentemente inferiores a 10mL/Kg.

Generalmente se asocia la síntesis y acumulación de aceites esenciales a la presencia de estructuras histológicas especializadas, a menudo localizadas sobre o la proximidad de la superficie de la planta.

Estos ocupan un lugar muy importante dentro de la industria farmacéutica, cosmética, perfumería y en numerosos sectores de la industria agroalimentaria, por sus diferentes usos (25) (52).

### 1.4.1 USO DE LOS ACEITES ESENCIALES Y ESENCIAS

Los aceites esenciales tienen una enorme cantidad de usos. La FAO (Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la Alimentación) (1998). Estima que existen alrededor de 3000 aceites esenciales conocidos a nivel mundial, de los cuales aproximadamente el 10% tienen importancia comercial. La mayoría de los aceites se usan en cosméticos, masajes, aromaterapia, artesanías o en productos de limpieza; otros son usados como repelentes de insectos tanto para el hombre como para el ganado, y en medicina se aplican en el tratamiento de una amplia diversidad de afecciones.

### 1.4.2 PROPIEDADES FISICAS.

Los aceites esenciales son líquidos volátiles a temperatura ambiente. En general su densidad es inferior a la del agua. Poseen un índice de refracción elevado y la mayoría desvían la luz polarizada. Son liposolubles y solubles en los disolventes orgánicos habituales, tales como tolueno, butil acetato, mezclas de alcoholes de cadena larga, entre otros. Se pueden arrastrar por vapor de agua, en la que son muy poco solubles; no obstante son lo suficientemente solubles como para comunicarle un olor neto. (16)(43)

### 1.4.3 COMPOSICIÓN QUIMICA

Los aceites esenciales son mezclas complejas y muy variables de constituyentes, que quedan englobados en distintas grupos funcionales químicos, tal como se muestra a continuación. (Ver tabla 3)

Tabla 3 Composición general de un aceite esencial. (43)

<b>Grupo químico funcional</b>	<b>Ejemplos</b>
Hidrocarburos terpénicos	Terpenos y terpenoides
Aldehídos	Aldehído benzoico, cinámico, butanal y propanal
Ácidos	Acético, palmítico.
Alcoholes	Linalol, geraniol, mentol
Fenoles	Acetol, eugenol
Ésteres	Acetato de linalilo, acetato de geranilo
Cetonas	Tuyona
Otros	Ésteres, derivados nitrogenados, sulfuros, Tioeteres, tioesteres.

Considerando al aceite esencial como un producto de aroma característico y clasificando su composición sobre la base de esta propiedad, se puede afirmar que un aceite esencial es una mezcla de sustancias constituida fundamentalmente por una base integrada por hidrocarburos terpénicos (34%).

El contenido de aceite esencial en la planta se ve influenciada de manera directa por factores extrínsecos como son: la práctica de cultivo, el tiempo de almacenamiento de la materia prima, la temperatura, la humedad relativa, los diferentes suelos y el régimen de los vientos que ejercen una influencia directa, que puede ser positiva o negativa.



También hay influencia del proceso de obtención: como puede ser el agua, la acidez y la temperatura; los cuales pueden inducir la hidrólisis de los ésteres pero también reagrupamientos e isomeraciones, racemizaciones, oxidaciones, etc. (43)

Finalmente hay que señalar que la cinética de destilación es idéntica para todos los componentes de aceite esencial, la composición del destilado varía en función del tiempo. (24) (25).

#### 1.4.4 CONTROL DE CALIDAD

Las farmacopeas indican diferentes ensayos: evaluación de la miscibilidad en etanol, medidas físicas, índice de refracción, poder rotatorio, densidad relativa, viscosidad, a veces punto de solidificación, determinación de los índices de acidez, éster, carbonilo; así como la búsqueda de aceites grasos y de aceites esenciales resinificados determinación de residuos de evaporación, etc. Exigen también un análisis del aceite esencial por una técnica cromatográfica aunque mucho menos resolutiva que la CG, la CCF de los aceites esenciales se puede utilizar de manera rutinaria para el control de calidad: placas de sílice, sistemas de disolventes a base de tolueno o benceno, cloroformo y/o acetato de etilo, y con detección por UV.(24)

#### 1.4.5 PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS

Algunas de las propiedades que destacan son:

- **Poder antiséptico.**

El poder antiséptico se manifiesta frente a diversas bacterias patógenas, incluso cepas habitualmente resistentes a antibióticos. Algunos aceites también son activos sobre hongos responsables de la micosis en particular de la dermatofitosis (*Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum*) y sobre levaduras (*Candida*). Generalmente las dosis son bajas las cuales se determinan por experimentación *in Vitro*. Hay evidencia de su uso como conservadores al diluirlos en vehículos apropiado, principalmente su uso por vía tópica (19) (20).

- **Propiedades espasmolíticas y sedantes**

Numerosos fármacos o compuestos derivados de aceites esenciales son reportados para disminuir o suprimir los espasmos gastrointestinales. También pueden estimular la secreción gástrica, por lo que se han clasificado como digestivas, y estomáticas.

Las propiedades sedantes se deben a que cuando se huele algo se evoca a la memoria emocional y esta se puede relacionar con las emociones, y esta asociación, genera el aprovechamiento de los aceites esenciales para uso terapéutico, dado que la conciencia registra el aroma con la ambientación.

*In Vitro* gran cantidad de aceites esenciales ejercen una actividad espasmolítica marcada sobre el íleon aislado de cobaya. Es posible que esta actividad se deba a una inhibición de la entrada de calcio en las células (25).

#### 1.4.6 TOXICIDAD

Toda sustancia independientemente de su carácter natural o artificial, puede ser toxica dependiendo de las características químicas de la sustancia en cuestión y de la dosis de que se trate. Así pues tratándose de mezclas complejas, como lo son los aceites esenciales, algunos son más tóxicos que otros, dependiendo de los compuestos que lo constituyen y su cantidad. Por ejemplo se ha demostrado que son altamente tóxicos aquellos que tienen una cantidad mayor o igual de alguno ó algunos de los siguientes compuestos: tuyonas (0.2g/Kg), pulegona (0.47g/Kg), carvacrol (0.81g/Kg), carvona (1.64g/Kg).

Se considera que los aceites esenciales administrados por vía oral tienen una toxicidad débil, si presentan un  $DL_{50}$  comprendido entre 2 a 5g/Kg, los de toxicidad media tienen un  $DL_{50}$  de 1 a 1.9g/kg. Y los más tóxicos tienen un  $DL_{50}$  menor a 0.9g/kg. (25)

- **Toxicidad dérmica.**

Sobre la piel tienen un poder irritante, sensibilizante o fototóxica, y solo se debe utilizar tras su dilución en un vehículo apropiado. No se debe utilizar directamente sobre mucosas.

#### 1.4.7 CARCINOGENESIS

La valoración de riesgo es delicada por las variaciones metabólicas dependientes de la especie o por la desproporción entre las dosis administradas en las experimentaciones con animales y la que el hombre puede consumir cotidianamente. Por lo que no es posible relacionar su consumo con el cáncer. (24) (25)

En particular los aceites empleados, por su actividad antimicótica reportada son: Manuka (*Leptospermum scoparium*), Lavanda (*Lavandula Angustifolia*), Tomillo (*Thymus vulgaris*) y el árbol del Té (*Melaleuca alternofilia*), de los que se hace una reseña de sus propiedades a continuación. (16)(43)

### 1.5 ACEITES ESENCIALES CON ACTIVIDAD ANTIMICOTICA

En diversos estudios, se reporta la actividad antimicótica que presentan algunos aceites esenciales tales como: Tea Tree, orégano, Thyme thymol, Lavander, Peppermint, Palmarosa, Manuka entre otros, así como las condiciones que son favorables para tener un efecto sinérgico contra los dermatofitos.(31) (32) (33) (34)

### 1.5.1 ACEITE ESENCIAL DE MANUKA (*Leptospermum scoparium*)

Es un arbusto pequeño de 1 a 1.5 metros de altura, sus hojas son de color púrpura verdoso, sus flores son dobles de color rojo intenso, blancas y rosadas y de larga duración en la planta, que crece al sur de Nueva Zelanda y en el este de Australia (fig 2). En Nueva Zelanda es valorado por su aceite esencial, el cual es de especial interés por que este es rico en tricetonas, las cuales le confieren actividad antibacterial y antifúngica, de manera que es 20-30 veces más eficaz que el aceite del árbol del Té frente a bacterias Gram positivas. El aceite de Manuka también es anti-inflamatorio y antiestrés. En cosmética, se está incorporando en desodorantes para eliminar los gérmenes causantes del olor corporal. También se ha empleado en productos para pieles acnéicas, en preparados para la caspa y como conservante natural de cosméticos (35) (36).

Los componentes de *Leptospermum scoparium* varían en cuanto a cantidad, de acuerdo a la región geográfica en donde crece. (37)

La tabla siguiente muestra los compuestos mayoritarios presentes en el aceite esencial de Manuka.

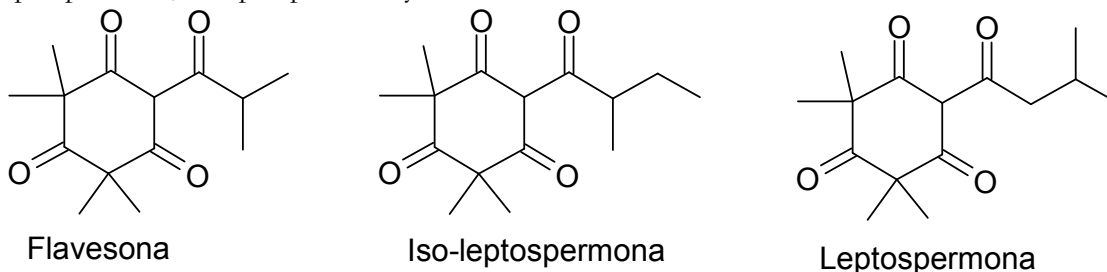
Tabla 4. Principales componentes en el aceite esencial de Manuka.(37)

Componentes	Contenido (%)
leptospermona	15.54
calamaneno	14.42
$\delta$ -cadineno	6.02
$\alpha$ -copaeno	5.86
Cadina-1,4-dieno	5.94
Flavesona	4.91
Cadina-3,5-dieno	4.88
<i>Iso</i> -leptospermona	4.62
$\alpha$ -selineno	4.35
$\alpha$ -cubeneno	3.95
$\delta$ -amorfenno	3.81
$\beta$ -selineno	3.67
$\beta$ -cariofileno	2.63
$\alpha$ -pineno	1.31



Fig 2 Manuka (*Leptospermum scoparium*)

La actividad antimicótica, del aceite esencial de Manuka se apoya en estudios realizados *in Vitro* en los que se reporta que la actividad biológica, se debe al alto contenido de tricetonas como son leptospermona, isoleptospermona y flavesona.



Entre los organismos susceptibles a estos compuestos, podemos encontrar a *Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Candida albicans*; los cuales, son agentes causales de la dermatofitosis. En la literatura se reporta una Concentración Mínima Inhibitoria al 90% ( $MIC_{90}$ ) de 0.03 a 0.078% masa/volumen (36) (37) (38).

### 1.5.2 ACEITE ESENCIAL DEL ARBOL DEL TE (TTO) (*Melaleuca alternifolia*)

El árbol del Té como se le conoce, pertenece a la familia de las mirtáceas es un arbusto pequeño, con corteza escamosa, exfoliante. Las hojas son ovaladas o lanceoladas, con un margen de color verde a gris. Las flores se producen en racimos densos a lo largo de los tallos, el color de la flor varía del blanco al rosa, rojo, amarillo pálido o verdoso (fig 3). El fruto es una pequeña capsula que contiene diminutas semillas. El aceite esencial es extraído por destilación simple, y se ha reportado su actividad antibiótica a una  $MIC_{90}$  de 0.5 a 0.44% contra hongos y levaduras tales como: *Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis*, *Trichophyton tonsurans*, *Candida sp.* y *Trichophyton mentagrophytes*, entre otros agentes etiológicos causantes de las tiñas de piel, manos, pies, uñas y mucosas (32) (33) (40).

La actividad antifúngica del aceite esencial del árbol del Té, se atribuye a terpinen-4-ol, el cual es el componente mayoritario (40) (41).

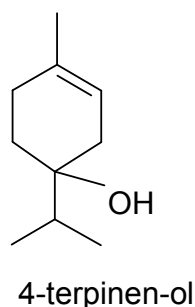


Fig 3 TTO (*Melaleuca Alternifolia*)

Tabla 5 Principales componentes del Tea Tree. (41)

Componentes	Contenido (%)
Terpinen-4-ol	39.8
$\gamma$ -terpineno	17.8
$\alpha$ -terpineno	8.3
1-8-cineol	4.5
$\alpha$ -terpineol	3.4
$\Delta$ -terpinolona	3.3
$\rho$ -cymeno	2.3
$\alpha$ -pineno	2.1
$\delta$ -cadineno	1.5

### 1.5.3 ACEITE ESENCIAL DE LAVANDA (*Lavandula angustifolia*).

Es una planta que se distribuye en la región del mediterráneo, tiene hojas verde ceniza muy estrechas y con los bordes muy enrollados, pertenece a la familia de las *labiadas*; es un pequeño arbusto siempre verde, en la parte superior de los tallos las flores tienen una tonalidad púrpura (ver fig 4) y su característico aroma se genera en las glándulas que contienen y producen aceite, el cual es un líquido amarillo o incoloro, y su principal aplicación se encuentra en la industria cosmética. El uso de esta planta es muy antiguo sobre todo con fines terapéuticos donde se tratan estados neuróticos en niños y en adultos o en caso de trastornos menores del sueño.

Recientemente diversos estudios reportan su actividad antimicótica *in Vitro*, contra hongos causantes de la dermatofitosis como: *Microsporum canis*, *Tricophyton mentagrophytes*, y *Epidermophyton floccosum* así como levaduras tales como *Candida albicans*, a una MIC<sub>90</sub> de 2 al 4% v/v.

La actividad antifúngica del aceite esencial de Lavanda se atribuye a Linalol, y al Linalol acetato, los cuales son sus componentes mayoritarios, como se puede observar en la siguiente tabla. (31)(33)(34)

Tabla 6. Principales componentes del aceite esencial de *Lavandula angustifolia*.

Componentes	Contenido (%)
Linalol	33.65
Linalil acetato	26.34
Limoneno	8.70
Camphor	5.31
Borneol	4.89
$\alpha$ -pineno	4.21
$\alpha$ -terpineol	1.71
Cariofileno	1.39

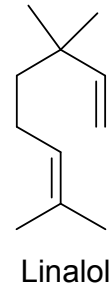
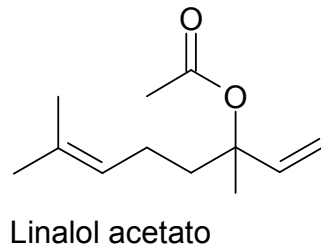


Fig 4 Lavanda (*Lavandula angustifolia*)

#### 1.5.4 ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO (*Thymus vulgaris*).

El tomillo (*Thymus vulgaris*) es una planta nativa de Europa Mediterránea, pertenece a la familia de las Lamiaceae, sus tallos son leñosos de entre 15 y 30 cm de altura, sus tallos de sección cuadrada están repletos de pequeñas hojas de entre 4 y 5mm en forma de racimos y con tonalidades verdes recubiertas de aceite esencial presentan un aspecto veloso. Su floración se produce entre los meses de marzo a mayo, momento en que ofrece su soporte mas atractivo con pequeñas flores de color blanco, rosa o violeta.

Ampliamente cultivada como hierba culinaria, aunque también ha sido utilizada empíricamente como planta medicinal por cientos de años, principalmente como antiséptico para enfermedades respiratorias y desordenes digestivos.

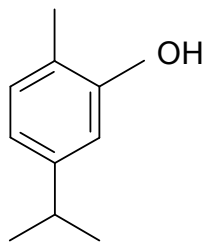
El aceite esencial de Tomillo es extraído por medio de la destilación de las hojas y parte superior de la planta.

Se reporta la actividad biológica como: anti-inflamatorio, antioxidante, antibacterial y agentes causales de la dermatofitosis tales como, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis*, *Epidermophyton floccosum*, a una MIC<sub>90</sub> de 0.16-0.32µl/ml (v/v) y de *Candida albicans* a una MIC<sub>90</sub> de 0.32-0.64µl/ml (v/v). (35)(36) (37)

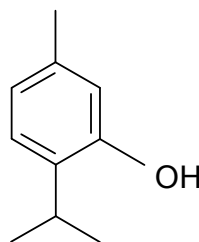
Los componentes mayoritarios del aceite esencial de Tomillo se reportan en la siguiente tabla, y su actividad antifúngica se atribuye a sus componentes mayoritarios como son: Thymol, p-cimeno y Carvacrol.

**Tabla 7 Principales componentes del aceite esencial de Tomillo.**

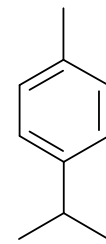
Componentes	Contenido (%)
p-cimeno	36.5
Thymol	33.0
1,8-cineol	11.3
$\alpha$ -terpineol	4.8
Carvacrol	3.9
Borneol	2.1
Linalool	2.0



Carvacrol



Thymol



p-cimeno

Fig. 5 Tomillo (*Thymus vulgaris*)

En base a este estudio preliminar fue conveniente desarrollar un producto de calidad, de fácil aplicación, bajo un presentación farmacéutica, que contenga a tales aceites esenciales.

Recordando que las dermatofitosis afectan la epidermis, específicamente el estrato corneo, es necesario elaborar un producto de aplicación tópica y de efecto local, además de que su aplicación sea cómoda, que no deje una sensación grasosa, no manche y tenga una correcta lavabilidad.

En consecuencia, se propuso la elaboración sistemas semisólidos (cremas), de tal manera que permita la incorporación de los aceites esenciales, en la concentración terapéutica reportada. Al mismo tiempo, los componentes de la formulación protegerán al aceite de la oxidación, y que además conservaran las características propias de esta forma farmacéutica.

Recordando las características deseadas para el producto farmacéutico de aplicación tópica, además de que como principio activo tenemos aceites esenciales, lo más factible es pensar en una emulsión semisólida aceite en agua (o/w).

Los sistemas semisólidos satisfacen una exigencia de las preparaciones de aplicación tópica, ya que en general, poseen buena adherencia, lo que hace que permanezcan sobre la superficie de aplicación por un tiempo razonable hasta que se eliminan por lavado. (58)

Las cremas constituyen un grupo de preparados farmacéuticos, caracterizado por su consistencia semisólida, están destinadas a ser aplicadas sobre la piel o sobre ciertas mucosas con el fin de ejercer una acción local o de dar lugar a la penetración cutánea de los medicamentos que contiene, están constituidas por 2 fases, una oleosa y otra acuosa. (58)

Las cremas pueden ser:

Hidrófobas. La fase continua o externa es la fase oleosa.

Hidrófilas. La fase externa es de naturaleza acuosa.

Para comprender las características de una crema, revisemos el principio físico de lo que son las emulsiones.

## 1.6 EMULSIÓN

Una emulsión se puede definir como dos líquidos inmiscibles, uno de los cuales está finamente subdividido y distribuido uniformemente a medida que las gotas se distribuyen mezclándose entre sí. El sistema se estabiliza con un agente emulsionante. (57)

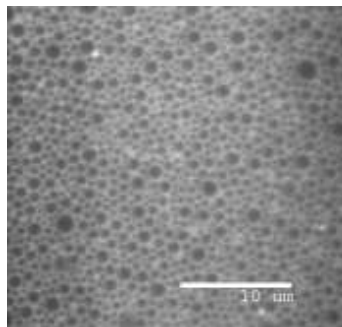


Fig 6 Microfotografía de una emulsión

### 1.6.1 Tipos de Emulsión.

- Óleo acuoso (o/w en inglés). Las gotas de aceite se dispersan a través de la fase acuosa
- Hidrooleosa (w/o). El agua se dispersa en la fase oleosa.
- Múltiples (o/w/o) ó (w/o/w) Se forma de gotas de aceite en gotas de agua de un mayor tamaño que se dispersan a su vez en agua o de forma opuesta.



Las emulsiones farmacéuticas consisten habitualmente en una mezcla de fase acuosa con varios aceites o ceras. Además, es necesario incluir un agente o agentes emulsificantes para facilitar la emulsión actual durante la fabricación, y también para garantizar la estabilidad de la emulsión durante el periodo de validez del producto

### 1.6.2 Componentes en la emulsión

- Medio dispersante o matriz (fase continua o externa): Agua
- Gotitas o glóbulos dispersos (fase dispersa o interna): Aceite Esencial o esencia
- Emulsificante: I y II no iónicos

### 1.6.3 Formulación según el método de HLB

Este método fue ideado por Griffin (1949) y es útil para calcular las cantidades relativas de estos emulgentes necesarios para producir una emulsión físicamente más estable para una emulsión aceite en agua en particular. Aunque, su uso se ha extendido hasta los emulgentes iónicos.

Cada emulsionante tiene asignado un número HLB que representa las propiedades relativas de los componentes lipófilos e hidrófilos de la molécula. Los números altos (hasta un máximo de 20), indican que tiene propiedades hidrofílicas o polares, mientras que los números bajos representan las características lipofílicas o no polares.

### 1.6.4 Clasificación de los agentes emulsificantes.

Hay muchos tipos de emulgentes disponibles, pero por conveniencia se pueden dividir en dos grupos: agentes tensoactivos sintéticos o semisintéticos y materiales de origen natural y sus derivados.



#### Agentes tensoactivos y sintéticos

- **Aniónico:** Se disocian en soluciones acuosas para formar aniones de carga negativa. Por ejemplo: jabones alcalinos LSS, sales de ácidos orgánicos de cadena larga ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ) sales de ésteres con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  como alcoholes grasos superiores, estables a un pH de 7.
- **Catiónico:** Estos materiales se disocian en soluciones acuosas para formar cationes de carga positiva. Por ejemplo:  $\text{Br}^-$  cetil trimetil amonio, cationes de cadena larga, compatibles con  $\text{NH}_4^+$ , estables a pH entre 3 y 7
- **No iónicos.** Estos compuestos varían desde compuestos liposolubles a materiales hidrosolubles. son totalmente covalentes y no tiene ninguna tendencia a la ionización. Estos son particularmente útiles debido a su baja toxicidad y capacidad irritante.
- **Anfotericos.** Estos poseen grupos de carga tanto como positiva como negativa, dependiendo del pH del sistema, son catiónicos a un pH bajo y aniónicos a un pH alto.



### **Materiales naturales y derivados**

Son de origen natural, y muestran una variación considerable, de sus propiedades emulsionantes, además de ser susceptibles a la contaminación microbiológica. En esta clasificación tenemos: polisacáridos (goma arábiga, tragacanto), polisacáridos semisintéticos (metilcelulosa 20), sustancias que contienen esteroides (cera de abeja).

Para la formulación base propuesta se tienen emulsificantes no iónicos, con un valor de HLB entre 10 y 15 lo que indica que es de naturaleza hidrófila. Por lo que se utilizan en emulsiones oleoacuosas.

### **1.6.5 ELABORACIÓN GENERAL DE UNA EMULSIÓN**

De manera muy general se resumen los pasos para elaborar una emulsión.

- 1.- Determinar el tipo de emulsión.
  - 1.1.- Seleccionar el agente emulsificante (HLB).
- 2.- Agrupar los componentes según su solubilidad y disolverlos donde proceda.
- 3.- Aplicar la fase interna sobre la externa.
- 4.- Mezclar las dos fases.

Una vez que se ha elaborado la emulsión, lo más conveniente es verificar que sea estable y para ello existen las siguientes pruebas preliminares que indicarán la estabilidad de la emulsión.

### **1.6.6 ESTABILIDAD DE UNA EMULSIÓN.**

La estabilidad de una emulsión depende de los siguientes factores: el tamaño de partícula, la diferencia de densidad de ambas fases, la viscosidad de la fase continua y de la emulsión, la eficacia y cantidad del agente emulsificante, y las condiciones de almacenamiento (las temperaturas altas y bajas), la agitación y vibración, la dilución o evaporación durante el almacenamiento o el uso.

Desde el punto de vista farmacéutico se consideran estables cuando los glóbulos de la fase interna, mantienen su tamaño y forma iniciales, permaneciendo uniformemente distribuidos, en la fase continua durante un tiempo razonable suficiente para su almacenamiento y uso.

Puesto que las partículas de una emulsión están suspendidas libremente en un líquido, obedecen a la ley de Stokes si no están cargadas, como es nuestro caso. La estabilidad incluye forzosamente la no coalescencia de las partículas de la emulsión y la no sedimentación. Por lo tanto, el agente emulsificante y la energía (agitación) garantizan la formación de la emulsión así como su estabilidad.(57)

La observación visual puede permitir detectar algunos indicadores cualitativos de inestabilidad como: cambios de color, olor y pH.

Si la emulsión hubiera presentado variación en las observaciones anteriores, entonces la emulsión pudo haber presentado alguno de los siguientes fenómenos que se mencionan a continuación.

- 1.-Cremado. La fase dispersa se concentra en la parte superior.
- 2.-Floculación. Se forman agregados de glóbulos que no se fusionan entre si.
- 3.-Sedimentación. La fase dispersa se concentra en la parte inferior.
- 4.-Coalescencia. Proceso por el cual los glóbulos se une para formar otros de mayor tamaño, provocando la ruptura de la emulsión.
- 5.-Inversión de fases. La fase continua pasa a discontinua y viceversa.

Donde las tres primeras son reversibles, en tanto que las dos últimas son irreversibles.(55)

Para verificar que en realidad la emulsión es estable se realizan los siguientes estudios de estabilidad

### 1.6.7 ENSAYOS DE ESTABILIDAD DE LAS EMULSIONES.

La estabilidad física de una emulsión se puede evaluar examinando el grado de corte o coalescencia, por análisis del tamaño del glóbulo o cambios de viscosidad que se produce durante un periodo de tiempo.(55)

Para comparar las estabilidades relativas de varios productos similares es necesario acelerar los procesos de corte y coalescencia, lo que puede conseguirse con uno de los métodos siguientes.

Almacenamiento a temperaturas adversas.



Ciclos de temperatura (4° a 40°C): Al exagerar las fluctuaciones de temperatura a las que está sujeta el producto en condiciones de almacenamiento normal, es posible comparar las estabilidades de una serie de emulsiones.

Tabla 8. Ciclos de Frío-calor (4° a 40°C).

Día	Temperatura °C	Tiempo de exposición (h)
1	4°C	24
2	40°C	24
3	4°C	24
4	40°C	24
5	4°C	24
6	40°C	24
7	4°C	24



Almacenamiento a 40°C: Acelera los productos de cremado o sedimentación (disminuye la viscosidad) de floculación o coalescencia (aumenta la agitación térmica).

- Centrifugación: Aumenta la velocidad de cremado, sedimentación, floculación.

Para verificar que el producto es estable y que cumplió con las características organolépticas deseables se evalúa visualmente:

- Separación de fases.
- Cremado y sedimentación.
- Floculación.
- Coalescencia.
- pH

### 1.6.8 EQUIPOS DE EMULSIFICACIÓN

Para elaborar una emulsión se requiere de un equipo especial que nos proporcione energía y que además cumpla con el trabajo de mezclado para dispersar la fase interna en la externa. Los equipos generalmente usados son:

- \***Agitadores** (baja viscosidad).
- \***Mezcladores mecánicos** (A propulsión o de hélice o de turbina o de palas)
- \***Molinos coloidales** (rotor y estator)
- \***Homogenizadores de alta presión.**
- \***Dispositivos ultrasónicos.**

La agitación empleada en los experimentos del laboratorio, es por lo general mucho más vigorosa y eficiente que la de los equipos a escala de planta. Para la elaboración de nuestra emulsión, en el laboratorio utilizamos un mezclador mecánico de hélice.

### 1.7 PROPIEDADES DE LOS EXCIPIENTES.

El principal papel del excipiente es servir de soporte al principio activo que se desea aplicar sobre la piel, aunque podría influir en la penetración del principio activo hacia lugares mas o menos profundos situados por debajo de la zona de aplicación y contribuir de este modo en la eficacia del preparado.

La base propuesta, contiene los siguientes excipientes y enseguida veremos las propiedades generales que cada uno de estos tiene.

- **Agentes emulsificantes I(Ester estearil polioxilo 6) y II (Ester estearil polioxilo 25)**

Son emulsificadores etoxilados no iónicos. Se disuelven en agua y en alcohol para formar una coloide o una solución clara. Pueden solubilizar aceites y grasas animales y vegetales.

Son resistentes a la acción de ácidos, bases y sales. Por lo que su eficiencia como emulsificantes no cambia con la presencia de electrolitos.

Se utilizan en combinación los emulsificantes I y II, para formar emulsiones o/w. Pueden ser utilizados con aceites con un amplio rango de polaridades y además en una concentración del 1-8% en la formulación total. Lo que representa un ahorro económico.

También se recomienda utilizarlo en combinación con alcohol cetosteárico, ya que al modificar la cantidad de agua hasta en un 90%, la estabilidad de la crema no se ve afectada.

Tabla 9. Propiedades físicas de los emulsificantes.

Identidad	Emulsificante I	Emulsificante II
Apariencia	Semisólido blanco.	Microesferas blancas
Grado de etoxilación	6	25
HLB	10	15

Tabla 10. Especificación de los emulsificantes.

Parámetro	Límites de especificación	
	Emulsificante I	Emulsificante II
Valor de saponificación	≤3.0mg/g	≤3.0mg/g
Agua (k. Fisher)	≤1.0g/100g	≤1.0g/100g
1,4-Dioxano,ppm	≤10mg/kg	≤10mg/kg
Oxido de etileno	≤1.0mg/kg	≤1.0mg/kg
Residuo de ignición	≤0.2g/100g	≤0.2g/100g
Punto de goteo	41-45°C	44-48°C



#### **Alcohol Cetosteárico.**

Es una mezcla de alcoholes estearílico y cetílico con pequeñas cantidades de algunos otros alcoholes. Las proporciones en las cuales generalmente se encuentran estos alcoholes son: alcohol estearílico de 50-70%, alcohol cetílico 30-50%. (58)

Imparte, propiedades visco-elásticas, se utiliza como un emoliente y agente emulsificante.



#### **Vaselina Líquida.**

Es una mezcla purificada de hidrocarburos de petróleo. Líquido aceitoso, incoloro, inodoro, insoluble en agua y alcohol. Sirve como lubricante y emoliente para la formulación de formas farmacéuticas líquidas y semisólidas.(58)



**Propilenglicol**

Es un líquido claro, incoloro y viscoso. Sirve como vehículo para el principio activo. (59)



**Propilparabeno y Metilparabeno**

Son ésteres de ácido para-hidroxibenzoico con propanol o metanol. Se utilizan en la conservación de alimentos, su principal ventaja es que, al no tener fácilmente grupos ionizables, su comportamiento es independiente de los cambios de pH en un rango muy amplio. Son conservantes efectivos contra mohos y levaduras, y bastante menos frente a bacterias. (58)

## **Capítulo 2**

# **PARTE EXPERIMENTAL Y METODOLOGÍA**

## 2.1 ESTUDIOS DE PREFORMULACIÓN

Preformulación es el proceso dentro del desarrollo de medicamentos que involucra la aplicación de parámetros físicos, químicos y biológicos que permiten analizar las propiedades del principio activo así como de los componentes a utilizar con la finalidad de detectar las posibles incompatibilidades que se puedan presentar al desarrollo del producto.

La finalidad de llevar a cabo los estudios de preformulación es diseñar el mejor sistema para su aplicación dando como resultado una formulación estable, eficaz, de fácil aplicación y segura que cumpla con las características deseadas y con la finalidad para la cual se desea desarrollar el producto.

### 2.1.1 CARACTERIZACIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS

Los principios activos que utilizamos son: aceite esencial de Manuka, Lavanda (proveedor I y II), Tea Tree, Tomillo, y esencias de Tomillo y Lavanda; los cuales tienen propiedades antimicóticas en particular contra dermatofitos y se mencionan en el primer capítulo.

Los aceites esenciales son líquidos volátiles a temperatura ambiente. Algunos aceites son densos.

De acuerdo a las características físicas que este posee, el proceso de caracterización se realizó con las siguientes pruebas:

- Descripción
- Índice de refracción de los aceites esenciales.
- Densidad relativa



#### **Descripción**

Esta parte consistió en describir las características sensoriales de los aceites esenciales como olor, color y apariencia física, mediante el siguiente procedimiento:

#### **METODOLOGIA**

Etiquetar 7 vasos de precipitados de 50mL, con el nombre de los 7 diferentes aceites esenciales, (un vaso para cada aceite).

Colocar 5mL de aceite esencial en el vaso correspondiente a su nombre, para analizar su olor, color y apariencia general.





### **Índice de Refracción**

El índice de refracción es un parámetro propio de cada medio que indica el comportamiento de la luz al atravesarlo. El método se basa en la medida directa del ángulo de refracción, en un aparato llamado refractómetro tipo Abbe. El procedimiento es el siguiente:

#### METODOLOGIA

a) Se ajusta el equipo a 25°C con un dispositivo de agua que permita mantener el aparato a una temperatura constante de 25°C, ya que los aceites esenciales se miden a esa temperatura por indicación de NMX-K-129-1976. **DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN EN ACEITES ESENCIALES Y PRODUCTOS AROMÁTICOS.**

b) Calibrar el equipo con agua destilada.

c) Después de haberlo calibrado se limpia perfectamente con una gasa. Y se colocan algunas gotas de aceite esencial, hasta cubrir la superficie del prisma., se sellan los prismas siguiendo las indicaciones del fabricante, se ajusta y observa por el ocular para obtener su parámetro. Después se retira el aceite esencial con una gasa y se limpian los prismas con una gasa impregnada de alcohol etílico, para asegurar que no quede aceite esencial. Repetir para cada aceite esencial.



### **Densidad Relativa.**

Esta es una relación entre la densidad de una sustancia y una de referencia, que generalmente es el agua. Y esta relación es constante para cada líquido.

#### METODOLOGIA

Medir la masa del picnómetro vacío y después se llena de agua destilada a 20°C, se anotan estos datos, y se limpia y seca el picnómetro.

El picnómetro ahora se llena con un aceite esencial y se pesa.

Se hace una relación de los pesos obtenidos entre el picnómetro vacío ( $m_1$ ), picnómetro con agua ( $m_2$ ) y picnómetro con aceite esencial y  $m_3$ , con la siguiente fórmula.

$$d_2 = \frac{m_2 - m_1}{m_3 - m_1} d_1$$

Donde:

$d_2$ : es la densidad del aceite

$d_1$ : es la densidad del agua

## PARTE EXPERIMENTAL Y METODOLOGIA

Los datos obtenidos de estas 3 pruebas, los podremos comparar con los reportados en el control analítico con que se expide cada aceite esencial.

### 2.2 DESARROLLO DE LA CREMA BASE

En la monografía de los emulsificantes I y II, se recomienda utilizarlos en combinación y se plantea una formulación de crema base, por su versatilidad de ser muy estable y de admitir un amplio rango de sustancias polares como son los aceites esenciales y grasas naturales.

Con la intención de verificar si la formulación de la crema será estable, se fabrica un lote sin principio activo y se somete a las pruebas de estabilidad..

### 2.3 PROCEDIMIENTO GENERAL DE ELABORACIÓN.

Se aplico el procedimiento general para la elaboración de cremas, que implica la fusión de las grasas y el calentamiento de la fase acuosa para su posterior homogenización e incorporación del aceite esencial.

Tabla 11. Formulación de la crema base.

<b>Formulación de base de la crema total 50g</b>		
I	Alcohol Cetoestearílico	3.5
	Emulsificante I	0.75
	Emulsificante II	0.75
	Parafina Líquida	6.0
	Parabenos	0.1
II	Agua	34.9
III	Propilenglicol	4.0

- 1.-Pesar las materias primas para un tamaño de lote de 50g.
- 2.- Calentar la mezcla I y el agua (II) por separado hasta alcanzar una temperatura de de 80 °C.
- 3.- Adicionar el agua sobre la solución I mezclando vigorosamente con una batidora de inmersión (I/II).
- 4.-Calentar el III a no mas de 32°C.±3°C
- 5.-Adicionar sobre la mezcla (I/II), a III y continuar agitando, hasta que la mezcla se encuentre a temperatura ambiente.

Los factores importantes a considerar durante el proceso de manufactura se enuncian a continuación.

- La temperatura a la cual deben estar las mezclas I y II, debe ser la indicada.
- El recipiente que contendrá la mezcla y en el cual se agite, debe ser apropiado, para manejar temperaturas de 80°C y de capacidad suficiente.
- Durante el proceso de mezclado, la agitación puede hacerse por pulsos, para evitar que el motor se caliente, hasta temperatura ambiente.

## PARTE EXPERIMENTAL Y METODOLOGIA

Al terminar el proceso de fabricación de la crema, se procede a realizar las siguientes pruebas, ya que una emulsión bien formulada debe cumplir con propiedades organolépticas aceptables, su viscosidad debe ser la apropiada para poder extraerse del envase y poder aplicarse sobre la piel sin provocar irritación por un pH inadecuado.

- Descripción de las características organolépticas de la crema: Aspecto, color y olor.
- Determinar el valor de pH.
- Determinar el valor de viscosidad.
- Prueba de estabilidad por :

I.- Centrifugación. (3000rpm/5min y 10 min)

II.- Ciclado térmico, envasando en 3 tipos de envase primario más comunes para preparados farmacéuticos semisólidos: tarro de vidrio con tapa de rosca, tubo de latón y tubo de aluminio.

Lo que se espera en nuestro producto terminado, se muestra a continuación.

Tabla 12. Resultados que se esperan de la formulación base.

		<b>Crema Base</b>
<b>Descripción organoléptica</b>		Blanca, brillante, homogénea, de fácil aplicación y con olor característico de los parabenos
<b>PH (25°)</b>		5-6
<b>Centrifugación 3000 rpm</b>	<b>5 min</b>	Sin separación de fases
	<b>10min</b>	Sin separación de fases.

Una vez que se verifico que esta formulación base tenia propiedades organolépticas aceptables y que era estable, se procede a fabricar las cremas con los diferentes aceites esenciales, de los cuales se ha reportado que tienen actividad contra dermatofitos y de los cuales en la parte de introducción se reporta su monografía.

### 2.4 DESARROLLO DE LAS CREMAS CON ACEITES ESENCIALES

De los resultados de estabilidad de la base de la crema, se procede a fabricar las cremas con el principio activo propuesto adicionando en cada caso la cantidad de aceite correspondiente a la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) reportada.

### 2.4.1 CREMA CON ACEITE ESENCIAL DE MANUKA

Tabla 13. Crema Antimicótica con aceite esencial de Manuka.

<b>Formulación de Crema antimicótica, con Aceite Esencial de Manuka. Contenido total 50g</b>		
I	Alcohol Cetoesterílico	3.5
	Emulsificante I	0.75
	Emulsificante II	0.75
	Parafina Líquida	6.0
	Parabenos	0.1
II	Agua	33.05mL
III	Propilenglicol	4.0g
	Aceite esencial de Manuka	1.85mL

### 2.4.2 CREMA CON ACEITE ESENCIAL DE MANUKA Y TTO

Con base a reportes en donde se indica el sinergismo que hay entre los aceites esenciales de Manuka y Tea Tree (TTO) contra dermatofitosis, se propone una formulación, en donde se utilicen, como principios activos, el Tea Tree y Manuka en concentración mínima inhibitoria reportada en estudios *In vitro*. Se propone una disminución en la concentración de Manuka, ya que se reporta en la bibliografía que TTO requiere del doble de concentración que Manuka para actuar contra los dermatofitos.

Tabla 14. Crema con aceite esencial de Manuka y Tea Tree.

<b>Formulación de Crema antimicótica con Aceite Esencial de Tea tree y Manuka / 50g</b>		
I	Alcohol Cetoestearílico	3.5
	Emulsificante I	0.75
	Emulsificante II	0.75
	Parafina Líquida	6.0
	Parabenos	0.1
II	Agua	30.3
III	Propilenglicol	4.0g
	Aceite esencial de Manuka	1.6
	Aceite esencial de Tea Tree	3mL

### 2.43 CREMAS CON ACEITE ESENCIAL DE LAVANDA (Proveedor I y II)

Se fabrican dos lotes de cremas con aceite esencial de Lavanda, en la misma concentración, pero de diferente proveedor ya que el índice de refracción es diferente. También se fabrica un lote con Esencia de Lavanda para ver si hay diferencia en la actividad contra dermatofitos.

- Proveedor I (nacional).
- Proveedor II (importación)
- Proveedor III (Esencia nacional)

Tabla 15. Crema con aceite esencial de Lavanda Proveedor I.

<b>Formulación de Crema <math>\square</math> antimicótica con Aceite Esencial de Lavanda / 50g</b>		
I	Alcohol Cetoestearílico	3.5
	Emulsificante I	0.75
	Emulsificante II	0.75
	Parafina Líuida	6.0
	Parabenos	0.1
II	Agua	33.45mL
III	Propilenglicol	4.0g
	Aceite esencial de Lavanda Prov. I	2mL

Tabla 16. Crema con aceite esencial de Lavanda Proveedor II.

<b>Formulación de Crema <math>\square</math> antimicótica con Aceite Esencial de Lavanda / 50g</b>		
I	Alcohol Cetoestearílico	3.5
	Emulsificante I	0.75
	Emulsificante II	0.75
	Parafina Líuida	6.0
	Parabenos	0.1
II	Agua	32.9mL
III	Propilenglicol	4.0g
	Aceite esencial de Lavanda Prov II	2 mL

#### 2.4.4 CREMA CON ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO

La siguiente formulación contiene ahora como principio activo el aceite esencial de Tomillo a la concentración de 32 $\mu$ l/g (v/w), que es la que se reporta con actividad contra dermatofitos, y el volumen final se ajusta con la fase externa (agua).

Tabla 17. Crema con aceite esencial de Tomillo.

<b>Formulación de Crema antimicótica con Aceite Esencial de Tomillo/ 50g</b>		
I	Alcohol Cetoesterilico	3.5
	Emulsificante I	0.75
	Emulsificante II	0.75
	Parafina Líquida	6.0
	Parabenos	0.1
II	Agua	33.3mL
III	Propilenglicol	4.0g
	Aceite esencial de Tomillo	1.6mL

#### 2.4.5. CREMA CON ESENCIA DE LAVANDA

Tabla 18. Crema con Esencia de Lavanda.

<b>Formulación de Crema antimicótica con Esencia de Lavanda / 50g</b>		
I	Alcohol Cetoestearílico	3.5
	Emulsificante I	0.75
	Emulsificante II	0.75
	Parafina Líuida	6.0
	Parabenos	0.1
II	Agua	32.9mL
III	Propilenglicol	4.0g
	Esencia de Lavanda.	2 mL

#### 2.4.6 CREMA CON ESENCIA DE TOMILLO

La siguiente formulación contiene ahora como principio activo, esencia de Tomillo a la concentración de 32µl/g (v/w).

Tabla 19. Crema con esencia de Tomillo.

<b>Formulación de Crema antimicótica con Esencia de Tomillo/ 50g</b>		
I	Alcohol Cetoestearílico	3.5
	Emulsificante I	0.75
	Emulsificante II	0.75
	Parafina Líquida	6.0
	Parabenos	0.1
II	Agua	33.3mL
III	Propilenglicol	4.0g
	Esencia de Tomillo	1.6mL

Las características deseables de nuestro producto final, como indicativo de que tenemos cremas con propiedades organolépticas aceptables y estables, se enuncian en la siguiente tabla.

PARTE EXPERIMENTAL Y METODOLOGIA

**2.5 ESPECIFICACIONES DE PRODUCTO TERMINADO.**

Tabla 20. Características deseables del producto terminado

		ACEITES ESENCIALES				ESENCIAS		
		MANUKA	MANUKA-TTO	LAVANDA proveedor I	LAVANDA Proveedor II	TOMILLO	LAVANDA Proveedor III	TOMILLO
<b>Descripción Organoléptica</b>		Blanca, nacarado, homogénea, de fácil aplicación de olor característico	Blanca y brillante homogénea y de fácil aplicación, con olor característico	Blanca, brillante homogénea, y de fácil aplicación, olor característico	Blanca, brillante homogénea, y de fácil aplicación. olor característico	Blanca, brillante homogénea y de fácil aplicación y olor característico	Blanca, brillante homogénea, de fácil aplicación y olor característico	Amarillo, brillante Homogénea, de fácil aplicación, de olor característico
<b>PH (25°C)</b>		5-6	5-6	5-6	5-6	5-6	5-6	5-6
<b>Centrifugación a 3000rpm</b>	<b>5mim</b>	Sin separación de fases	Sin separación de fases	Sin separación de fases	Sin separación de fases	Sin separación de fases	Sin separación de fases	Sinseparación de fases
	<b>10mim</b>	Sin separación de fases	Sin separación de fases	Sin separación de fases	Sin separación de fases	Sin separación de fases	Sin separación de fases	Sin separación de fases

## 2.6 DETERMINACIÓN DE LAS PRUEBAS DE CICLADO TÉRMICO CON TRES TIPOS DE ENVASE PRIMARIO.

Todo medicamento una vez fabricado debe ser sometido a una serie de operaciones, conocidas genéricamente como envasado y acondicionamiento, para que puedan llegar al usuario como auténticos medicamentos, en condiciones óptimas de estabilidad, seguridad y eficacia.

Además en el proceso de envasado también proporciona protección frente a las condiciones ambientales, físicas, biológicas, químicas y pasivas, garantizando así la estabilidad.(58)

Las- formas semisólidas como las cremas suelen venir envasadas en tubos de plástico o metal de capacidad variable, cilíndricos para nuestro producto son de 100 y 150mL de plástico y estaño. Ya que permite una fácil dispensación, con buen cierre y una protección adecuada del producto. Cuando se utilizan correctamente, el riesgo de contaminación de la fracción remanente es mínimo. Poseen un peso ligero, se deforman con facilidad al aplicarles presión

Pero también pueden utilizarse tarros de vidrio, sobre todo cuando son de uso cosmético.

Se proponen 3 diferentes tipos de material de envase primario, para verificar que envase cumple mejor con la función de protección.

Tabla 21. Determinación de la estabilidad térmica en diferentes materiales de empaque.

<b>Características del envase</b>	<b>Día</b>	<b>Temperatura °C±2°C</b>	<b>Tiempo de exposición (h)</b>
<b>Tarro de vidrio Esmerilado con tapa de rosca</b>	1	3	24
	2	40	24
	3	3	24
	4	40	24
	5	3	24
	6	40	24
	7	3	24
<b>Tubo de latón</b>	1	3	24
	2	40	24
	3	3	24
	4	40	24
	5	3	24
	6	40	24
	7	3	24
<b>Tubo de aluminio plastificado</b>	1	3	24
	2	40	24
	3	3	24
	4	40	24
	5	3	24
	6	40	24
	7	3	24

Las determinaciones que se hacen por cada ciclo de temperatura y en cada envase son:

- Características organolépticas (color, olor, y aspecto homogéneo)
- Estabilidad física (si se observa indicio de separación de la emulsión).



## **2.7 PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICOTICA DE LAS CREMAS CON ACEITES ESENCIALES POR METODO DE DILUCIÓN EN AGAR**

### **MGA 0571. LIMITES MICROBIANOS**

Se realizan pruebas de susceptibilidad microbiológica *in Vitro* con la finalidad de probar la posible actividad antimicótica de las cremas elaboradas.

Para la realización de estas pruebas se utilizó al microorganismo *Trichophyton rubrum*, el cual es un agente etiológico que se encuentra con mayor frecuencia en la dermatofitosis en México.

Estas pruebas se hacen por el método de dilución en agar y determinación de límites microbianos MGA 0571, con algunas modificaciones de acuerdo a nuestras circunstancias.

#### **2.7.1 Metodología por microdilución en agar en dermatofitos**

##### **2.7.1. A. AISLAMIENTO.**

a) Resembrar las cepa *T. rubrum* en agar papa-dextrosa, incubar durante 7 días a 28°C.

##### **2.7.1. B. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.**

- 1.-Marcar las cajas indicando la crema a evaluar y la dilución correspondiente
- 2.-Pesar 1 gramo de cada crema, en frascos con rosca con capacidad de 15mL.
- 3.-Adicionar 0.5ml de tween al 5%.
- 4.-Adicionar 8.5mL de buffer de fosfatos (pH 7.2). Homogeneizar. (1ª dilución).
- 5.-Tomar 1mL de la solución anterior y llevarlo a 9.0mL con buffer de fosfatos.(2ª dilución).
- 6.-Tomar 1mL de la solución y llevarlo a 9.0mL con buffer de fosfatos.(3ª dilución)
- 7.-Adicionar por duplicado 1mL de cada dilución del producto en cajas Petri. Y agregar a cada caja de 20mL del medio Agar dextrosa sabouraud fundido, evitando la formación de burbujas.
- 8.-Con movimientos suaves mezclar la alícuota de la muestra en el medio de cultivo, evitando el derrame del líquido.

Debemos señalar que el medio debe estar previamente esterilizado y mantenido en baño de agua a una temperatura aproximada de 45 a 48°C, para evitar que solidifique.

9.-Permitir que el medio de cultivo solidifique a temperatura ambiente e incubar las placas en posición invertida a 35±2°C por 48 horas, para su control de calidad.

##### **2.7.1. C. EVALUACIÓN DE LAS CREMAS, SIN DILUCIÓN.**

- 1.-Marcar las cajas indicando la crema a evaluar.
- 2.-Pesar 1 gramo de cada crema.
- 3.-Adicionar 0.5ml de tween al 5%. Y mezclar perfectamente hasta formar una pasta
- 4.-Se adicionan 20mL del medio de Agar dextrosa sabouraud, y homogenizar con movimientos suaves.

## PARTE EXPERIMENTAL Y METODOLOGIA

- 5.-Verter el producto con el medio en una caja Petri, evitando la formación de burbujas.
- 6.-Permitir que el medio con la crema, solidifique e incubar las cajas en posición invertida a  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$  por 48 horas, para su control de calidad.

### 2.7.1. D. PREPARACIÓN DE INOCULO

- a) Prepara condiciones asépticas.
- b) Del aislamiento de *T. rubrum*, abrir la caja.
- c) esterilizar. el asa y tomar una asada de Tween 20
- c) Inmediatamente tomar una asada de conidias y depositarlas en un tubo de ensaye con 10mL de solución salina 0.9%y agitar hasta formar una suspensión.
- d) Filtrar con filtro whatman N°40.
- e) Comparar la suspensión de microconidias por turbidez con la curva de McFarland (anexo1) y realizar las diluciones correspondientes para obtener una concentración de  $1 \times 10^4$ (UFC/mL). Esta será nuestra suspensión de microconidias que utilizaremos.

### 2.7.1. E. INOCULACIÓN DE PLACAS

1.-Inocular las placas preparadas previamente (48hrs), con 100 $\mu\text{l}$  de la suspensión de microconidias con concentración de  $1 \times 10^4$ (UFC/mL) y distribuir el inculo con un asa bacteriológica, mediante el estriado por agotamiento.

13.-Incubar a  $28^{\circ}\text{C}$  y examinar si el Microorganismo crece en cada una de las cajas después de 72, 120 y 168hrs.

10.-Este procedimiento se lleva a cabo para cada una de las cremas y para un control positivo, que será la crema base; es decir la crema sin principio activo, y un control negativo que será una caja Petri con medio de cultivo sin inocular.

**Nota:** Para cada una de las etapas de la evaluación de susceptibilidad antimicótica, es indispensable, delimitar la zona de trabajo limpiando con alcohol etílico al 70%, y trabajar en una zona de esterilidad creada por la llama de un mechero.

## **Capítulo 3**

### **RESULTADOS Y ANALISIS.**

### 3.1. PREFORMULACIÓN.

#### 3.1. A Caracterización del principio activo.

Tabla 22. Caracterización sensorial del principio Activo.

<b>ACEITE ESENCIAL</b>	<b>Resultado</b>
Manuka	Líquido amarillo paja traslucido, de olor pungente, fluido
Manuka-TTO	Líquido amarillo traslucido, de olor pungente y muy fluido
Lavanda (Proveedor I)	Líquido incoloro, de aroma característico, muy fluido
Lavanda (Proveedor II).	Líquido amarillo tenue y traslucido, de olor característico, muy fluido
Tomillo	Líquido incoloro, muy fluido de olor característico.
<b>ESENCIA</b>	
Tomillo	Líquido café opaco, de aroma característico.
Lavanda	Líquido amarillo tenue traslucido, de olor característico y muy fluido.

#### 3.1. B Índice de Refracción y Densidad relativa

Tabla 23. Índice de Refracción y densidad relativa del principio activo

<b>Aceite Esencial</b>	<b>Índice de Refracción a 25°C</b>	<b>Densidad relativa 25°C</b>
Manuka	1.393500	0.9756
Manuka-TTO	1.475574	0.8972
Lavanda (Proveedor I)	1.461568	0.8859
Lavanda (Proveedor II)	1.461682	0.8855
Tomillo	ND	0.8990
<b>Esencia</b>		
Tomillo	1.455566	1.018
Lavanda	1.4502643	0.9511

ND. No detectable

La mayoría de estos resultados son muy semejantes a los reportados en la hoja de control analítico (**anexo A**), por lo que se puede asegurar que los principios activos con los que se trabajaron cumplen con los parámetros de calidad requeridos.

### 3.2 RESULTADOS DE LA FORMULACIÓN BASE.

Tabla 24. Crema base.

		<b>Base</b>
<b>Descripción organoléptica</b>		Blanca, brillante, homogénea, de fácil aplicación y con olor característico de los parabenos.
<b>PH (25°C)</b>		6
<b>Centrifugación 3000rpm</b>	<b>5min</b>	No hay separación de fases
	<b>10min</b>	No hay separación de fases.

Estos resultados indican que la formulación base, cumple con las características organolépticas esperadas y que es estable.

Los resultados obtenidos en cuanto la apariencia y características de las cremas obtenidas fueron muy satisfactorios y se muestran en la tabla 25.

**3.3 RESULTADOS DEL DESARROLLO DE LAS CREMAS CON LOS ACEITES ESENCIALES.**

Tabla 25. RESULTADOS DEL DESARROLLO DE LAS CREMAS CON ACEITES ESENCIALES.

		ACEITES ESENCIALES					ESENCIAS	
		MANUKA	MANUKA-TTO	LAVANDA I	LAVANDA II	TOMILLO	LAVANDA III	TOMILLO
<b>Descripción Organoléptica</b>		Blanca, nacarado, homogénea, de fácil aplicación de olor característico	Blanca y brillante homogénea y de fácil aplicación, con olor característico	Blanca, brillante homogénea, de fácil aplicación y olor característico	Blanca, brillante homogénea, de fácil aplicación y olor característico	Blanca, brillante homogénea y de fácil aplicación y olor característico	Blanca, brillante homogénea, de fácil aplicación y olor característico	Amarillo, brillante homogénea de fácil aplicación, de olor característico
<b>PH (21°C)</b>		5	5	6	6	6	6	6
<b>Centrifugación a 3000rpm</b>	<b>5mim</b>	No hay separación de fases	No hay separación de fases	No hay separación de fases	No hay separación de fases	No hay separación de fases	No hay separación de fases	No hay separación de fases
	<b>10mim</b>	No hay separación de fases	No hay separación de fases	No hay separación de fases	No hay separación de fases	No hay separación de fases	No hay separación de fases	No hay separación de fases
<b>Viscosidad (Brook Field RTV) Aguja N°6 (21°C)</b>		31000-25000	17000-12000	32000-27000	29000-27750	32000-25500	17600-16000	17600-15600

3.4 CICLADO TÉRMICO FINAL

Tabla 26. Resultados del ciclado térmico después de 70 días.

Descripción Organoléptica de las diferentes cremas en tres diferentes materiales de envase primario.							
Material de empaque	Aceite Esencial					Esencia	
	Manuka	Manuka-TTO	Lavanda (Proveedor I)	Lavanda (proveedor II)	Tomillo	Lavanda	Tomillo
<b>Tapa de vidrio esmerilado, con tapa de rosca</b>	Se mantiene homogénea presenta el fenómeno de tixotropía, pero el sellado no es seguro pues hay derrame de crema al licuarse a 40°C.	Se mantiene homogénea presenta el fenómeno de tixotropía, pero el sellado no es seguro pues hay derrame de crema al licuarse a 40°	Se mantiene homogénea presenta el fenómeno de tixotropía, pero el sellado no es seguro pues hay derrame de crema al licuarse a 40°	Se mantiene homogénea presenta el fenómeno de tixotropía, pero el sellado no es seguro pues hay derrame de crema al licuarse a 40°	Se mantiene homogénea presenta el fenómeno de tixotropía, pero el sellado no es seguro pues hay derrame de crema al licuarse a 40°	Se mantiene homogénea presenta el fenómeno de tixotropía, pero el sellado no es seguro pues hay derrame de crema al licuarse a 40°	Se mantiene homogénea presenta el fenómeno de tixotropía, pero el sellado no es seguro pues hay derrame de crema al licuarse a 40°
<b>Tubo de Latón</b>	Se mantiene homogénea, presenta el fenómeno de tixotropía y el sellado es seguro, pues no hay derrame al licuarse a 40°C	Se mantiene homogénea, presenta el fenómeno de tixotropía y el sellado es seguro, pues no hay derrame al licuarse a 40°C	Se mantiene homogénea, presenta el fenómeno de tixotropía y el sellado es seguro, pues no hay derrame al licuarse a 40°C	Se mantiene homogénea, presenta el fenómeno de tixotropía y el sellado es seguro, pues no hay derrame al licuarse a 40°C	Se mantiene homogénea, presenta el fenómeno de tixotropía y el sellado es seguro, pues no hay derrame al licuarse a 40°C	Se mantiene homogénea, presenta el fenómeno de tixotropía y el sellado es seguro, pues no hay derrame al licuarse a 40°C	Se mantiene homogénea, presenta el fenómeno de tixotropía y el sellado es seguro, pues no hay derrame al licuarse a 40°C
<b>Tubo de Aluminio plastificado</b>	Se mantiene homogénea, presenta el fenómeno de tixotropía y sellado es seguro	Se mantiene homogénea, presenta el fenómeno de tixotropía y sellado es seguro	Se mantiene homogénea, presenta el fenómeno de tixotropía y sellado es seguro	Se mantiene homogénea, presenta el fenómeno de tixotropía y sellado es seguro	Se mantiene homogénea, presenta el fenómeno de tixotropía y sellado es seguro	Se mantiene homogénea, presenta el fenómeno de tixotropía y sellado es seguro	Se mantiene homogénea, presenta el fenómeno de tixotropía y sellado es seguro

## RESULTADOS Y ANALISIS

Durante la prueba de ciclado térmico se obtuvieron resultados favorables. La emulsión base y después las emulsiones con aceite esencial fueron estables aun después de finalizado el tiempo de estudio (70 días).

El fenómeno de tixotropía fue favorable, ya que la consistencia de las cremas variaba con la temperatura, es decir; a 40°C se licuaban y al estar entre 3 y 4°C esta tomaba una consistencia muy sólida, pero su apariencia era uniforme y homogénea.

El único inconveniente durante el ciclado fueron los tarros de vidrio, ya que al licuarse las cremas, las tapas del tarro no fueron lo suficientemente seguras como para dejar escapar crema licuada por la temperatura.

En tanto que el envase de latón y aluminio fueron seguros para contener las cremas a un a altas temperaturas sin que estas se derramaran., pero por facilidad de manejo elegimos el tubo de aluminio plastificado.

Cabe resaltar que al estar a temperatura ambiente las cremas son semisólidas con una apariencia organoléptica aceptable.



### 3.5 PRUEBAS SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICOTICA.

Las características del microorganismo que creció en algunas son las siguientes:

Hongo aterciopelado blanquecino que en el centro tiene una coloración café muy tenue, que se acentúa mientras crece la colonia.

Tabla 27. Resultados de las pruebas de susceptibilidad antimicótica de cremas con aceites esenciales y esencias en un inóculo  $1 \times 10^4$  de *Trichophyton rubrum* después de 72 horas de incubación

Dilución	Control +	Control -	Aceites Esenciales					Esencias	
	Base	Medio de cultivo sin inóculo	Manuka	Manuka-TTO	Lavanda Proveedor I	Lavanda Proveedor II	Tomillo	Lavanda	Tomillo
Ninguna	+	-	-	-	-	-	-	-	-
$10^{-1}$	++	-	-	-	-	-	-	-	-
$10^{-2}$	++	-	-	-	-	-	-	-	-
$10^{-3}$	++	-	+	-	+	-	-	+	++

(-) Ausencia de crecimiento (+) Presencia de crecimiento



Se puede observar que las cremas cumplen con inhibir el crecimiento del microorganismo, y mientras más se diluye, la efectividad de la crema disminuye.

## RESULTADOS Y ANALISIS

Tabla 28. Resultados de las pruebas de susceptibilidad antimicótica de cremas con aceites esenciales y esencias en un inóculo  $1 \times 10^4$  de *Trichophyton rubrum* después de 120 horas de incubación

	Control +	Control -	Aceites Esenciales					Esencias	
Dilución	Base	Medio de cultivo sin inóculo	Manuka	Manuka-TTO	Lavanda Proveedor I	Lavanda Proveedor II	Tomillo	Lavanda	Tomillo
Ninguna	+	-	-	-	-	-	-	-	-
$10^{-1}$	++	-	+	-	+	+		-	++
$10^{-2}$	++	-	++	+	+	+	+	+	++
$10^{-3}$	++	-	++	++	++	++	++	++	++

(-) Ausencia de crecimiento (+) Presencia de crecimiento

El efecto de la crema se ve disminuida al pasar el tiempo, en las cajas que pertenecen a las diferentes diluciones, por lo que podemos decir que su efecto es de dosis dependiente.



120 h después del inóculo



148h después del inóculo

Tabla 29. Resultados de las pruebas de susceptibilidad antimicótica de cremas con aceites esenciales y esencias en un inóculo  $1 \times 10^4$  de *Trichophyton rubrum* después de 148 horas de incubación

	Control +	Control -	Aceites Esenciales					Esencias	
Dilución	Base	Medio de cultivo sin inóculo	Manuka	Manuka-TTO	Lavanda Proveedor I	Lavanda Proveedor II	Tomillo	Lavanda	Tomillo
Ninguna	+	-	-	-	-	-	-	-	-
$10^{-1}$	++	-	++	++	++	+	-	++	++
$10^{-2}$	++	-	++	++	++	++	++	++	++
$10^{-3}$	++	-	++	++	++	++	++	++	++

(-) Ausencia de crecimiento (+) Presencia de crecimiento

Los controles positivo y negativo nos indican que las pruebas estuvieron bien realizadas y que nuestros resultados son confiables.



Además de que la evaluación de las cremas sin diluir, mantienen el efecto, y esto es razonable ya que es en la crema donde se tiene la concentración terapéutica reportada y utilizada.

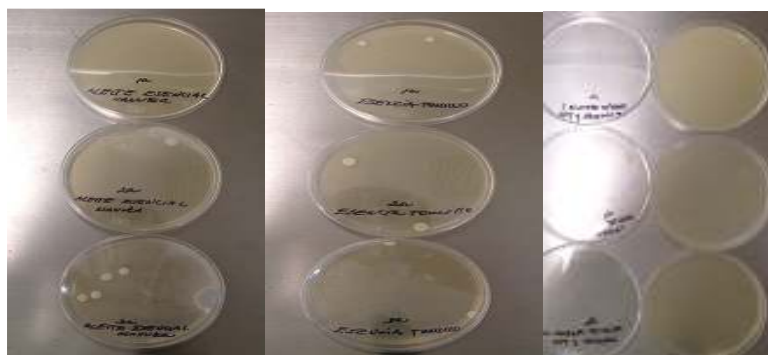
### 3.5.1 REPRODUCIBILIDAD DE LAS PRUBAS DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICOTICA

Tabla 30. Resultados de las pruebas de susceptibilidad antimicótica de cremas con aceites esenciales y esencias en un inóculo de  $1 \times 10^4$  de *Trichophyton rubrum* después de 72 horas de incubación

Dilución	Control+	Control-	Aceites esenciales					Esencias	
	Base	Medio de cultivo sin inóculo	Manuka	Manuka-TTO	Lavanda (prov I)	Lavanda (prov II)	Tomillo	Tomillo	Lavanda
0	++	-	-	-	-	-	-	-	-
$10^{-1}$	++	-	-	-	-	-	-	+	+
$10^{-2}$	++	-	++	++	+	+	+	++	+

(-) Ausencia de crecimiento (+) presencia de crecimiento

Se puede observar que el crecimiento es mas lento, que podría deberse a que el inóculo esta vez fue menor a  $1 \times 10^4$ .



Crecimiento después de 72 de incubación

## RESULTADOS Y ANALISIS

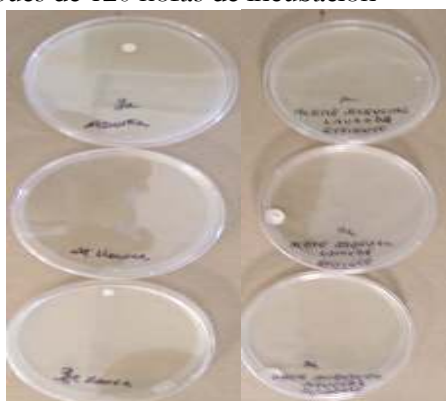
Tabla 31. Resultados de la prueba de susceptibilidad antimicótica de cremas con aceites esenciales y esencias en un inoculo de  $1 \times 10^4$  de *Trichophyton rubrum* después de 120 horas de incubación.

Dilución	Control +	Control -	Aceites Esenciales					Esencias	
	Base	Medio de cultivo sin inoculo	Manuka	Manuka-TTO	Lavanda Proveedor I	Lavanda Proveedor II	Tomillo	Lavanda	Tomillo
Ninguna	+	-	-	-	-	-	-	-	-
$10^{-1}$	++	-	-	-	-	+	-	-	-
$10^{-2}$	++	-	+	+	++	++	++	+	++
$10^{-3}$	++	-	++	++	++	++	++	++	++

Aunque el crecimiento es más lento son muy parecidos a la primera prueba.



Crecimiento después de 120 horas de incubación



Crecimiento después de 120h de incubación

## RESULTADOS Y ANALISIS

Debemos mencionar que en las cajas marcadas con Manuka, Lavanda proveedor II, hay crecimiento de un microorganismo con características diferentes a las del microorganismo en estudio, y lo atribuimos a una contaminación durante la preparación de la muestra, ya que por las circunstancias propias del laboratorio, no es posible trabajar en condiciones de esterilidad.

Tabla 32. Resultados de las pruebas antimicóticas de las cremas con aceites esenciales y esencias en un inóculo de  $1 \times 10^4$  de *Trichophyton rubrum* después de 148 horas de incubación.

Dilución	Control + Base	Control - Medio de cultivo sin inóculo	Aceites Esenciales					Esencias	
			Manuka	Manuka-TTO	Lavanda Proveedor I	Lavanda Proveedor II	Tomillo	Lavanda	Tomillo
Ninguna	+	-	-	-	-	-	-	-	-
$10^{-1}$	++	-	+	-	-	+	-	++	+
$10^{-2}$	++	-	+	+	++	++	++	++	++
$10^{-3}$	++	-	++	++	++	++	++	++	++

Los resultados son muy parecidos con los anteriores y son congruentes con lo que se esperaba, y que se hace muy evidente que las cremas con CMI del aceite esencial reportada, tienen la efectividad de inhibir el crecimiento del microorganismo.

## **Capítulo 4.**

# **CONCLUSIONES**

## CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos durante la elaboración de este proyecto llegamos a las siguientes conclusiones:

- ✓ Se obtuvieron 4 formas farmacéuticas de administración tópica, que contienen como principio activo aceites esenciales de: Manuka (*Leptospermum scoparium*), Lavanda (*Lavandula angustifolia*) Tomillo (*Thymus pulegioides*) y una combinación de Tea Tree (*Malaleuca Alternifolia*) con Manuka que pueden ser utilizadas como alternativas en el tratamiento contra la dermatofitosis.
- ✓ Con los estudios de preformulación se logró identificar al principio activo como un producto de calidad, al tener resultados de caracterización semejantes a los reportados en su hoja de control analítico.
- ✓ Las cremas tienen características organolépticas aceptables, por que cumplen con las características esperadas: es blanca, brillante, estable, uniforme, con un pH óptimo para la piel.
- ✓ Las pruebas de ciclado térmico y centrifugación permitieron determinar a corto plazo la estabilidad física del producto.
- ✓ Las pruebas de estabilidad preliminares que se realizaron, muestran que el producto es estable, utilizando el material de empaque final, seleccionamos como el mejor envase a los tubos de aluminio plástificado por su facilidad de transporte y uso.
- ✓ Las pruebas de susceptibilidad antimicótica, demuestran que las cremas con aceites esenciales tienen efectividad al inhibir el crecimiento de *T. rubrum*, pero haciendo una revisión de los datos, la efectividad de los aceites es diferente y se resume en la siguiente tabla de mayor a menor:

Tabla 33. Orden de efectividad antimicótica de las cremas elaboradas.

Orden de efectividad	Crema con aceite esencial de:
1°	Tomillo
2°	Manuka-TTO
3°	Manuka
4°	Lavanda proveedor II
5°	Lavanda Proveedor I
6°	Lavanda (Esencia)
7°	Tomillo (Esencia)

- ✓ Las pruebas microbiológicas realizadas, demuestran que las cremas desarrolladas conteniendo como principio activo diferentes aceites esenciales, cumplen con la función de inhibir el crecimiento de *T. rubrum*, como microorganismo más común de la dermatofitosis. Este tratamiento tópico se puede utilizar como adyuvante del tratamiento oral o bien profilácticamente, para evitar las recurrencias post-tratamiento.

## CONCLUSIONES

- ✓ Se demuestra también que las cremas con esencias no cumplen con la función de inhibir el crecimiento de *T. rubrum*. Por lo que no asegura un tratamiento eficaz contra la dermatofitosis.
- ✓ Se logro obtener 7 formas farmacéuticas de uso tópico con aceites esenciales, que puede emplearse en el tratamiento de las dermatofitosis.
- ✓ Siendo la dermatofitosis una de las afecciones más comunes en México, y para la cual el tratamiento convencional de este padecimiento suele ser prolongado, debido a la presencia de cepas que han desarrollado resistencia ante los agentes comúnmente usados, lo que favorece la presencia de eventos adversos y un incremento en los costos de su atención, es necesario comenzar a utilizar alternativas con productos naturales, disminuyan los efectos adversos.
- ✓ El tratamiento tópico de las dermatofitosis con cremas con aceites esenciales es posible y es recomendable en pacientes que presentan interacciones con la terapia oral.



# ANEXOS

**Anexo A.****CONTROL ANALÍTICO DE LOS ACEITES ESENCIALES****Aceite esencial de Lavanda.**

<b>DETERMINACIÓN</b>	<b>ESPECIFICACIONES</b>	<b>MÉTODO</b>	<b>RESULTADO</b>
Apariencia y color	Líquido amarillo pálido con aroma alcanforado característico a Lavanda	Visual	Cumple
Gravedad específica	0.900-0.915	FCC	0.900
Rotación óptica	-5.0 a 5.0+	FCC	-0.9
Índice de refracción	1.4630-1.4680	FCC	1.4630
Solubilidad en etanol	Soluble 1 a 3 en volúmenes de etanol	FCC	Soluble en 2.3 volúmenes
Cromatografía de gases	Comparación contra estándar		Cumple

**Aceite esencial de Árbol del Té.**

<b>DETERMINACIÓN</b>	<b>ESPECIFICACIONES</b>	<b>MÉTODO</b>	<b>RESULTADO</b>
Apariencia y color	Líquido amarillo pálido con olor característico	Visual	Cumple
Gravedad específica	0.890-0.905	FCC	0.891
Rotación óptica	-6.48 a 9.48+	FCC	+7.8
Índice de refracción	1.4650-1.4760	FCC	1.4686
Solubilidad en etanol	Soluble 0.6 a 1.8 en volúmenes de etanol a 80%, puede presentar opalescencia en diluciones mayores.	FCC	1.66 volúmenes soluble

**Aceite esencial de Manuka.**

<b>DETERMINACIÓN</b>	<b>ESPECIFICACIONES</b>
Apariencia y color	Líquido amarillo translucido
Gravedad específica	1.03±0.001
Solubilidad en agua	0.0423±0.001

## Anexo B

## MÉTODO DE McFARLAND

Estándares Nefelométricos:

- A. Objetivo : Medir turbidez
1. Medir densidad bacteriana en un cultivo líquido
  2. Producir un cultivo de una densidad deseada
- B. Preparación de estándares de sulfato de bario:
1. Reactivos
    - a. Cloruro de Bario ( $\text{BaCl}_2$ ), solución acuosa al 1%.
    - b. Acido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) grado reactivo analítico, solución acuosa al 1%.
    - c.  $\text{BaCl}_2 + \text{H}_2\text{SO}_4 \longrightarrow \text{BaSO}_4 + 2 \text{HCl}$
  2. Tubos de Prueba
    - a. 10 tubos de 16 x 150mm, nuevos con tapón de rosca de igual tamaño, enjuagarlos y dejarlos completamente limpios.
    - b. Comparar los tubos del mismo tamaño de diámetro.
  3. Etiquetar los tubos del 0.5 al 10 por duplicado. Agregar los reactivos correspondientes en las cantidades que se indican a continuación:

Tabla A. 3. Preparación de los estándares de Mc Farland

Número de tubo	Estándar de Sulfato de Bario										
	0.5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>BaCl<sub>2</sub> al 1.175% (mL)</b>	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 1.0% (mL)</b>	9.95	9.9	9.8	9.7	9.6	9.5	9.4	9.3	9.2	9.1	9.0
<b>Densidad aproximada de células (X 10<sup>8</sup>/mL)</b>	1.5	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
<b>Densidad aproximada de células (en millones/mL)</b>	150	300	600	900	1200 <sup>1</sup>	1500	1800	2100	2400	2700	3000 <sup>2</sup>

<sup>1</sup>1 billón, 200 millones<sup>2</sup>3 billones

4. Sellar los tubos.
5. Resuspender el  $\text{BaSO}_4$  precipitado hasta obtener una densidad por mililitro aproximadamente igual al homogeneizado de *Escherichia coli*.

C. Método usado:

1. Agitar suavemente los tubos del estándar.

2. A un tubo estéril del mismo tamaño de diámetro de los tubos de la curva estándar adicionar de manera aséptica una alícuota medida del medio de cultivo que será probado.
3. De manera aséptica, adicionar una cantidad medida de solución salina estéril (NaCl) hasta coincidir con la turbidez del número de tubo estándar deseado.

a. Método para medir la densidad del tubo de cultivo

- (1) Cada tubo tiene múltiplos de 300,000,000 (millones) de organismos/mL
- (2)  $10^8 = 00,000,000$
- (3) La densidad de células en un tubo estándar, multiplicado por 300,000,000 es igual al número de organismos por mL.
- (4) Ejemplo: Tubo # 3.

$$9 \times 10^8 = 900,000,000 \text{ organismos/mL}$$

b. Ejemplo para obtener una densidad equivalente a 100,000 organismos/mL ( $10^5$ ):

- (1) Tomar el tubo de cultivo # 1 ( $3 \times 10^8$ ) diluir 1:3 lo que equivale a  $10^8$  (2)
- Después dilución 1:1000
- (3)  $10^8 - 10^3 = 10^5$

D. Precauciones.

1. Si el medio de cultivo de prueba no es claro:
  - a. Restar los valores del medio no inoculado a la densidad del cultivo bacteriano corregido.
  - b. Por ejemplo:

$$\begin{array}{rcccl} \text{Tubo \# 4} & - & \text{Tubo \# 1} & = & \text{Tubo \#3} \\ \text{(Medio de cultivo)} & & \text{(Incubado, no inoculado)} & & \text{(Lectura corregida)} \end{array}$$

2. Si el medio esta altamente coloreado, pasar un tubo no inoculado detrás del tubo estándar para facilitar su lectura.

## **REFERENCIAS**

### Referencias

1. Bonifaz A.; Micología Medica Básica; Editorial Méndez Cervantes; Primera edición; 1990; México, D.F; pp: 70-78.
2. Ma del Carmen Padilla. Micosis Superficiales. Rev Fac de Med UNAM 2003, (46)4.
3. Pérez Cárdenas Enrique. Aspectos Actuales Sobre la Dermatofitosis y sus Agentes Etiológicos. Biosalud. Vol. 14. 2005 (105-121).
4. Luis J. Méndez Tovar, Manzano-Gayosos, V. Velásquez Hernández, Millan Chiu. Resistencia a compuestos azólicos de aislamientos clínicos de *Trichophyton* spp. Rev Iber de Micología 2007;24:320-322.
5. J. Ruiz-Esmenjaud, R. Arenas, Rodríguez-Álvarez, E. Monroy, R. F. Fernández. *Tinea pedis* y onicomycosis en niños de una comunidad indígena Mazahua. Gac. Méd. Méx Vol.139 No.3, 2003.
6. Villanueva-Reyes, R. Arenas. Onicomycosis en niños: estudio en una población mexicana. Dermatología Pediatr Lat 2006; 4(3); 197-203.
7. Padilla Desgarenes MC y Cols. Tiña inflamatoria de la cabeza por *Trichophyton tonsurans*. Rev Cent Dermatol Pascua. Vol. 9 Num 3. Sep-Dic 2000.
8. Elsa Vásquez-del Mercado y R. Arenas. Onicomycosis en niños. Estudio retrospectivo de 233 casos mexicanos. Gac Méd Méx 2008(1) pags 7 a 9.
9. Arenas R, Rosales C. Onicomycosis y tiña de los pies. Estudio de 31 casos en edad pediátrica. Dermatológica Rev. Mex 1997; 41(4):139-142
10. Patricia Manzano-Gayoso, Luis J. Méndez-Tovar, Francisca Hernández Hdez y Rubén López Martínez. La Resistencia a los Antifúngicos: Un problema emergente en México.
11. Amparo Hernández Salazar, Patricia Carvajal Pruneda, Ramón Fernández-Martínez y Roberto Arenas. Dermatofitosis por *Trichophyton rubrum*. Experiencia de 10 años (1996-2005) en un servicio de dermatología de un hospital general de la Ciudad de México. Rev Iber de Micología. 2007; 24: 122-124.
12. Del Palacio Amalia, Garau Margarita y Cuétara Ma Soledad. Tratamiento Actual de las dermatofitosis. Revista Iberoamericana de Micología 2002; 19: 68-71.
13. Roberto Arenas. Dermatofitosis en México. Rev Iberoam Micol 2002; 19: 63-67
14. Rivero Martín María José . Micosis Cutáneas. Guía\_ABE\_Micosis Cutáneas (v.1/2007).
15. Carrillo Muños Alfonso-Javier. Antifúngicos Tópicos en Micosis Superficiales. Revisión Clínica y Estudios terapéuticos. Barcelona. 2004.
16. Yovani Marrero Ponce, Yunuami Echeverría Díaz, Ricardo Medina Marrero y Gerardo Casañola Martín. Aspectos Actuales y Revisión de los Mecanismos de Acción de los Fármacos Antifúngicos. Universidad Central de las Villas. Cuba.

17. Fernández Alonso R, González García Mae, Fernández García J, Et al.; “Fármacos Antifúngicos. Situación Actual y Pautas para su Administración”; *Clin Transl Oncol.* 2005;7(9):377-88.
18. David Fleece, MD; John P. Gaughan, PhD; and Stephen C. Aronoff ;“Griseofulvin Versus Terbinafine in the Treatment of Tinea Capitis: A Meta-analysis of Randomized, Clinical Trials”;;MD. *PEDIATRICS.* 114(5) 2004
19. Mariana Sokovie, and Leo J.L.D. van Griensven. Antimicrobial Activity of essential oils and their components against the three major pathogens of the cultivated button mushroom. *Agaricus bisporus.* European Journal Plant Pathology (2006) 116.211-224.
20. Jesper B. Nielsen. Natural Oils Affect the Human Skin Integrity and the percutaneous Penetration of Benzoic Acid Dose- Dependently. *Pharmacology and Toxicology.* 2006.98 575-581.
21. Rajesh Kumar, Kimar Mishra, N.K. Dubay. Y.T. Tripathy. Evaluation de *Chenopodium ambrusoides* oil as a potential source of antifungal, antiaflatoxic and antioxidant activity. *International J. of Food Microbiology* 115 (2007) 159-164.
22. Meletiadiis J, Chanock S, Walsh TJ; “Defining targets for investigating the pharmacogenomics of adverse drug reactions to antifungal agents”; *The Society for Applied Microbiology, Letters in Applied Microbiol* 2003, 36, 111–115
23. Román Fernando D. “Innovación y desarrollo farmacéutico”. Ed. Asociación Farmacéutica Mexicana. 24-29. 103- 118
24. Jean Bruneton; Farmacognosia Fitoquímica; Plantas medicinales; 2ª edición. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza España.
25. Michael E. Aulton. Translation of Pharmaceutics. The Science of Dosage Form Desing. 2ª edición. Pág. 90-100 y 665.
26. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology; 3º edición. Editado por James Swarbrick; Vol. 2. Enciclopedia
27. Karmen Voda · Bojana Boh · Margareta Vrtacnik;; “A quantitative structure–antifungal activity relationship study of oxygenated aromatic essential oil compounds using data structuring and PLS regression analysis”; *J Mol Model* (2004) 10:76–84 DOI 10.1007/s00894-003-0174-5.
28. T.N. Tiwari , J.P:N.Chansouria and N.K. Dubey. Antimycotic Potency of Some Essential Oils in the Treatment of Induced Dermatomycosis of an Experimental Animal; *Pharmaceutical Biology;* 2003,41(5)o. 5, pp. 351–356.
29. Shigehera Intuye. Katsuhisa Uchida. Yayoi Nihiyama. Combined Effect of Heat, Essential Oils and Salt on the Fungicidal Activity against *Trichophyton mentagrophytes* in Foot Bath. *Journal Medical Micology* 2007 (27-36)2007
30. Alvarez Ma Elena, Gustavo Isaza, Actividad Antimicótica de *Phenax rugosus* (LAM) Pers y *Baccharis trinervis* (SW) wedd. *Revista de Ciencias Exactas. Biosalud.* Vol. 14.
31. Malcolm H. Douglas, John W. van Klink, B. M. Smalfield, N. Perry. Essential oils from New Zealand: triketone and other chemotypes of *Leptospermum scoparium*. *Phytochemistry* 65 82004) 1255-1264.

32. Noel G. Porter, Alistar L. Wilkins. "Chemical, Physical and antimicrobial, properties of essential oils of *Lepstospermum scoparium* and *Kunzea ericoides*".
33. Ngel b. Perky, John w. Van klink. Neria j. Breniun. Wry, Harris. Rosf ary e. Anieron.: malcolm h. Dou; "Essential oils from New Zeland manuka and kanuka: Chemotaxonomy of kunzea"; *Phytochemistry*. vol. 45. N°8. pp 1605-1612. 1997. Elsevier Science
34. Antifungal activity of the essential oil of *Agastache rugosa Kuntze* and its synergism with ketoconazole. 2003 *The Society for Applied Microbiology, Letters in Applied Microbiology*, 36, 111–115
35. Nenoff, P : Haustein, U F : Brandt. Antifungal activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil) against pathogenic fungi in vitro., *W. Skin-Pharmacol.* 1996; 9(6): 388-94
36. K.A. Hammer, C.F. Carson and T.V. Riley. Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil; *Journal of Applied Microbiology* 2003, 95, 853–860 doi:10.1046/j.1365-2672.2003.02059.x
37. F.D.D'auria, M. Tecca, V. Strippoli, G. Salvatore. Antifungal activity of *Lavandula angustifolia* essential oil against *Candida albicans* yeast and mycelial form. *Med. Mycology* 2005, 43, 391-396.
38. D. Peèiulytë; Effect of tea tree essential oil on microorganisms Evaluation of fungal reaction to tea tree oil under different conditions; *BIOLOGIA*. 2005. Nr. 2. P. 21–28
39. Therese Moon. Jenny. Wilkinson, Heather M. Cavanagh. Antiparasitic activity of two *Lavandula* essential oils against *Giardia duodenalis*, *Trichomonas vaginalis* and *Hexamita inflata*. *Parasitol Res* (2006)99 :722-728
40. [www.textoscientificos.com/emulsiones/introducción-28K](http://www.textoscientificos.com/emulsiones/introducción-28K)
41. J. De pascual-t, e. Caballero, c. Caballero and g. Machin; Constituents of the essential oil of *Lavandula latifolia*; *Phytochemistry*, 22(4)1033-1034, 1983 Printed in Great Britain.
42. M.G. Evandri, L. Barttinelli, C. Daniele. The Antimutagenic Activity of *Lavandula angustifolia* (Lavander) essential oil in the Bacterial reverse mutation assay. *Food and Chemical Toxicology*. 43 (2005) (1381-1387).
43. M. Segvic Klaric, .I. Kosalec, J.Mastelic, e. Pieckova and S. Pepeljnak. Antifungal activity of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil and thymol against moulds from damp dwellings; *Letters in Applied Microbiology* ISSN 0266-8254.
44. Inouye S, Nishiyama Y, Uchida K, Hasumi Y, Yamaguchi H, Abe S. The vapor activity of oregano, perilla, tea tree, lavender, clove, and geranium oils against a *Trichophyton mentagrophytes* in a closed box; *J Infect Chemother*. 2006 Dec;12(6):349-54. Epub 2007 Jan 18.
45. E Pinto, C. Pina-Vaz, L. Salguiero, M. Goncalves, S. Costa-de-Oliveira, Cavaleiro, Ana Palmeira, A. Rodriguez and José Martínez-Oliveira. Antifungal activity of the essential oil of *Thymus pulegioides* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species"; *Journal of medical Microbiology* (2006), 55, 1367-1373.
46. Bukovska, Cikos Stefan, Juhas Stefan. Effects of a combination of Thyme and oregano essential oils on TNBS-Induced colitis in mice. Hindawi Publishing Corporation . Volume 2007, Article ID 23296, 9 pages.



47. Tullio, A. Nostro, N. Mandras, P. Dugo, G. Banche, M.A. Cannatelli<sup>2</sup>, A.M. Cuffini, V. Alonzo and N.A. Carlone; Antifungal activity of essential oils against filamentous fungi determined by broth microdilution and vapour contact methods; Journal of Applied Microbiology. ISSN 1364-5072
48. Muñoz C. Adriana, Fernández Odalys, Núñez Leopoldo. Influencia de los parámetros químico Físicos en el diseño de la formulación de cremas de Budesonida al 0.025%. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. Vol 36. No1.Enero-Marzo 2005; 25-30.
49. Signorelli Isabella, Marylenlid Isla. Elaboración de una Crema para uso Tópico a base de *Urtica dioica* L. Revista de la Facultad de Farmacia Vol. 47(2) 2005.
50. Raymond C Rowe, Paul J Sheskey and Sian C Owen. Pharmaceutical Excipients. 2004.
51. A.M. Maccioni, C.Anchisi,, A. Sanna. Preservative systems containing essential oils in cosmetic products. International Journal of Cosmetic Science, 2002.24,53-59.
52. Ortuño Sánchez Manuel Francisco. Manual Práctico de Aceites Esenciales, aromas y perfumes. Editorial AIYANA. 2006
- 53.<http://www.medigraphic.com/espanol/e-htms/e-cutanea/e-mc2004/e-mc04-6/em-mc046b.htm>
- 54 [depa.fquim.UNAM.mx/-tunda/emulsificantes.html](http://depa.fquim.UNAM.mx/-tunda/emulsificantes.html)-47K
55. Aulton. Farmacia la ciencia del diseño de las formas farmacéuticas. 2ª edición. 2004.
56. Becher. Emulsiones Teoría y Práctica. Versión. Julian Fuertes, Marcuello Ed. Blume.
57. Sanz Pedrero. Fisicoquímica para Farmacia y Biología. Masson.
58. Vila Jato. Tecnología Farmacéutica. Vol II. Formas Farmacéuticas proyecto editorial Síntesis Farmacia.
- 59.- [www.rumapel.com.ar/pharma/p\\_excipientES](http://www.rumapel.com.ar/pharma/p_excipientES)