

00565



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**“CONTROL DE CALIDAD Y FORMULACION DE TABLETAS DE
Tanacetum parthenium por COMPRESION DIRECTA”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRIA EN CIENCIAS QUIMICAS
(CONTROL DE MEDICAMENTOS)**

P R E S E N T A:

Q.F.B. MIRZA VERONICA MEZQUITA ALCOCER

MEXICO, D.F.

2000

Handwritten signature



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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: Dra. Ofelia Espejo Ochoa

Vocal: Dr. Mario González de la Parra Yrigoyen

Secretario: Dra. Helgi Jung Cook

Primer suplente: M. en C. Carlos Ramos Mundo

Segundo suplente: M. en C. Leticia Cruz Antonio

Sitio donde se desarrollo el tema:

Laboratorio 126, del Departamento de Farmacia de la Facultad de Química de la UNAM.
Laboratorios Farmacéuticos Zaragoza, de la FES Zaragoza de la UNAM. Laboratorio de Tecnología Farmacéutica, de la Facultad de Química de la UNAM y Planta piloto de HELM de México S. A.

Sustentante:

Q.F.B. Mirza Verónica Mézquita Alcocer

Asesor:

Dr. Andrés Navarrete Castro

AGRADECIMIENTOS

Para la realización de esta investigación se contó con el apoyo financiero del CONACyT a través de la beca otorgada para la realización de mis estudios de maestría. El apoyo de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) a través del proyecto IN228198 y al Programa de Apoyo a la Investigación y al Posgrado (PAIP) a por medio del proyecto 6390-18. Se agradece a la compañía **Helm de México S. A.**, por la donación de los excipientes utilizados en esta investigación así como por la facilidad para realizar algunas de las pruebas en su planta piloto y por el apoyo en la obtención de la formulación. También se agradece a los laboratorios Mixim por proporcionar el extracto de referencia y la partenólida.

A la planta piloto de la FES Zaragoza por las facilidades para utilizar sus instalaciones.

Al laboratorio de Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Química por sus instalaciones prestadas, en particular al Ing. Joaquín Pérez Ruelas.

A la Q. Georgina Duarte Lisci y al M en C José Luis Gallegos Pérez de la USAI, Facultad de Química de la UNAM, por el registro de los espectros de gases-masas.

A los Q.F.B. Nancy Rodríguez, Cesar Escamilla y Martha Ugalde por su valiosa colaboración y apoyo en el desarrollo de este trabajo.

A la Q.F.B. María de los Angeles Vidal por la colaboración para la elaboración de las pruebas de compatibilidad por calorimetría.

A los Q. F. B. Adriana Campos Chirino y José Alfredo Pérez González por su valiosa ayuda en las determinaciones de contaminación microbiana y metales pesados.

Por último, deseo agradecer de una forma muy especial al creador del presente proyecto de Investigación, a mi asesor el Dr. Andrés Navarrete Castro por su apoyo y dirección.

***“Cuando deseas alguna cosa de todo corazón,
todo el Universo conspira para que puedas realizarla”***

ÍNDICE

LISTA DE TABLAS.....	I
LISTA DE FIGURAS.....	II
LISTA DE GRÁFICAS.....	II
LISTA DE DIAGRAMAS.....	II
LISTA DE FIGURAS (APÉNDICE).....	III
LISTA DE GRÁFICAS (APÉNDICE).....	IV
LISTA DE ABREVIATURAS.....	V

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. FUNDAMENTO TEÓRICO.....	3
2.1 PLANTAS MEDICINALES.....	3
2.1.1 PLANTAS MEDICINALES Y LA SALUD.....	3
2.1.2 MEDICAMENTOS HERBOLARIOS.....	7
2.1.2.1 Té.....	10
2.1.2.2 Jarabes.....	10
2.1.2.3 Cápsulas.....	11
2.1.2.4 Tabletas.....	11
2.1.2.5 Ungüentos.....	12
2.1.2.6 Extractos o Tinturas.....	12
2.1.3 CONTROL DE CALIDAD DE LOS MEDICAMENTOS HERBOLARIOS.....	13
2.1.3.1 Autenticidad botánica.....	14
2.1.3.2 Elementos Extraños.....	15
2.1.3.3 Contenido de Cenizas.....	15
2.1.3.4 Fibra Cruda.....	15
2.1.3.5 Determinación de material extraíble.....	16
2.1.3.6 Determinación de pérdida al secado y contenido de agua.....	16
2.1.3.7 Determinación del índice de hinchamiento.....	16
2.1.3.8 Determinación del principio activo.....	17
2.1.3.9 Limite microbiano y ausencia de microorganismos patógenos.....	17
2.1.3.10 Determinación de residuos plaguicidas.....	18
2.1.3.11 Determinación de arsénico y metales pesados.....	22
2.1.3.12 Prueba de inocuidad y toxicidad.....	22

2.1.4 REGULACION DE MEDICAMENTOS HERBOLARIOS.....	23
2.2 ANTECEDENTES SOBRE LA MIGRAÑA.....	27
2.2.1 TEORIA DE LA PATOGENIA DE LA MIGRAÑA.....	27
2.2.2 TRATAMIENTO DE LA MIGRAÑA.....	29
2.2.3 FARMACOS USADOS PARA EL TRATAMIENTO AGUDO DE LAS FORMAS DE MIGRAÑA MODERADA Y GRAVE	30
2.2.4 FÁRMACOS EMPLEADOS EN EL TRATAMIENTO PROFILÁCTICO DE DE LA MIGRAÑA GRAVE.....	31
2.3 ANTECEDENTES SOBRE <i>Tanacetum parthenium</i> (L) Schultz-Bip., Asterceae..	32
2.3.1 DESCRIPCIÓN.....	32
2.3.2 CONSTITUCIÓN QUÍMICA.....	34
2.3.3 ACTIVIDAD BIOLÓGICA.....	42
2.3.4 ESTUDIOS CLÍNICOS.....	46
2.3.5 OTROS ASPECTOS.....	47
2.4 TABLETAS.....	48
2.4.1 METODOS PARA LA ELABORACION DE TABLETAS.....	48
2.4.2 EXCIPIENTES EMPLEADOS EN LA ELABORACION DE TABLETAS.....	51
2.4.3 PARAMETROS REOLOGICOS.....	53
2.4.4 COMPATIBILIDAD DE COMPONENTES.....	53
3. JUSTIFICACIÓN.....	55
4. OBJETIVOS.....	56
4.1 OBJETIVO GENERAL.....	56
4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	56
5. METODOLOGÍA.....	57
5.1 BIOENSAYO PRELIMINAR DE LA RELAJACIÓN DEL MUSCULO LISO DE AORTA DE RATA.....	57
5.2 ANÁLISIS POR CG -EM.....	59
5.3 PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD DEL MATERIAL VEGETAL.....	59

5.3.1	IDENTIFICACIÓN CROMATOGRÁFICA DEL MATERIAL VEGETAL.....	60
5.3.2	ELEMENTOS EXTRAÑOS.....	60
5.3.3	FRAGMENTACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL.....	61
5.3.4	CONTENIDO DE CENIZAS.....	61
5.3.5	DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA.....	62
5.3.6	DETERMINACIÓN DE MATERIAL EXTRAÍBLE.....	62
5.3.7	DETERMINACIÓN DE PERDIDA AL SECADO.....	63
5.3.8	DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE HINCHAMIENTO.....	63
5.3.9	DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS.....	63
5.3.10	DETERMINACIÓN DEL LÍMITE MICROBIANO Y AUSENCIA DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS.....	64
5.3.10.1	Límites microbianos.....	64
5.3.10.1.1	Recuento de microorganismos mesófilos aerobios.....	64
5.3.10.1.2	Recuento de hongos filamentosos y levaduras (Método en placa).....	65
5.3.10.2	Identificación de microorganismos patógenos.....	66
5.3.10.2.1	Identificación de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Salmonella sp.</i> , <i>Escherichia coli</i>	66
5.3.10.2.2	Identificación de <i>Staphylococcus aureus</i>	67
5.3.10.2.3	Identificación de bacterias gram negativo.....	69
5.4	DESCRIPCIÓN DEL ANÁLISIS REOLÓGICO DE LAS HOJAS PULVERIZADAS DE <i>Tanacetum parthenium</i>	69
5.5	ESTABILIDAD DE LAS HOJAS PULVERIZADAS DE <i>Tanacetum parthenium</i>	71
5.6	COMPATIBILIDAD DE COMPONENTES (Elección de los excipientes).....	71
5.7	PROCEDIMIENTO DE MANUFACTURA.....	72
5.8	DESCRIPCIÓN DEL ANÁLISIS REOLÓGICO DE LA MEZCLA DE POLVOS	74
5.9	DESCRIPCIÓN PARA EL ANÁLISIS DE TABLETAS.....	75
6.	RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	78
6.1	BIOENSAYO PRELIMINAR DE LA RELAJACIÓN DEL MUSCULO LISO DE AORTA DE RATA.....	78
6.2	ANÁLISIS POR CG-EM.....	78
6.3	CONTROL DE CALIDAD DEL MATERIAL VEGETAL (Hojas de <i>Tanacetum parthenium</i>).....	81
6.4	REOLOGÍA DE LAS HOJAS PULVERIZADAS DE <i>Tanacetum parthenium</i>	90

6.5 ESTABILIDAD DE LAS HOJAS PULVERIZADAS DE <i>Tanacetum parthenium</i>	93
6.6 COMPATIBILIDAD DE COMPONENTES (Elección de los excipientes).....	93
6.7 FORMULACIÓN.....	97
6.8 REOLOGÍA DE POLVOS DE LA MEZCLA EXCIPIENTE-PLANTA.....	99
6.9 ELABORACIÓN DE LAS TABLETAS POR COMPRESION DIRECTA DE LAS HOJAS DE <i>Tanacetum parthenium</i>	105
7. CONCLUSIONES.....	110
8. PERSPECTIVAS.....	111
9. BIBLIOGRAFÍA.....	112
APÉNDICE I. MEDIOS DE CULTIVO EMPLEADOS.....	120
APÉNDICE II. IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS GRAM NEGATIVO.....	124
APÉNDICE III. TERMOGRAMAS.....	126
APÉNDICE IV. CARTAS DE CONTROL POR VARIABLES.....	129

RESUMEN

Tanacetum parthenium es una planta que se ha utilizado como febrífugo para el tratamiento del asma, la artritis y la migraña. En México esta planta es conocida comúnmente como Santa María. Las hojas de *T. parthenium* se utilizan como materia prima para la elaboración de medicamentos herbolarios tanto en la forma farmacéutica de Tabletas como de cápsulas de gelatina dura. Los medicamentos que se comercializan en México son importados de Canadá y Europa. El *T. parthenium* cultivado en México no contiene partenólida, metabolito al que se le atribuye la actividad vasorrelajante e inhibidora de la liberación de la serotonina. En este estudio demostramos que el extracto clorofórmico de *T. parthenium* es capaz de provocar vasorelajación en el músculo liso de aorta de rata a pesar de no contener partenólida. Por el interés comercial que representa esta planta, se realizó la formulación de tabletas con polvo de hojas de *T. parthenium* por compresión directa. Para esto se llevó a cabo el control de calidad de las hojas de *T. parthenium* de acuerdo a los lineamientos propuestos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la USP XXIV. La selección de los excipientes de la formulación se determinó por el estudio de compatibilidad por calorimetría diferencial de la interacción de una mezcla física 1:1 de polvo de hojas de *T. parthenium* - excipiente. Una vez seleccionados los excipientes óptimos se procedió a realizar la elaboración de tabletas por compresión directa del polvo de *T. parthenium*, siguiendo sus correspondientes controles de proceso y control de calidad de las tabletas elaboradas.

Los medicamentos herbolarios al igual que los medicamentos cuyo principio activo es un compuesto puro, requieren del seguimiento de un control de calidad para su elaboración, para el caso de los primeros el control de calidad inicia desde el cultivo de la planta y culmina con la obtención del producto de anaquel.

ABSTRACT

Tanacetum parthenium has been used as febrifuge for the treatment of asthma, arthritis and migrain. In Mexico this plant is commonly known as Santa Maria. The leaves of *Tanacetum parthenium* are used as raw material to elaborate of herbal medicines in the pharmaceutical form of tablets and capsules of hard gelatine. *Tanacetum parthenium* comercializatiad in Mexico are imported from Canada and Europe. *Tanacetum parthenium* cultivated in Mexico does not have parthenolide. The inhibition of smooth muscle contractility and inhibition of the serotonin liberation, has been atributed to parthenolide.

In this study we demonstrate that cloroformic extract of *Tanacetum parthenium* is able to cause inhibition of smooth muscle contractility of rat aort rings although it does not have parthenolide. In this work we implemented a tablet formulation with leaves powder of *Tanacetum parthenium* and the quality control was performed following the guidelines Word Healt Organization (WHO) and Pharmacopeia United States (USP).

The selection of excipients in this formulation was determinated by a study of compatibility by differential calorimetry between phisical mixture 1:1 of leaves powder of *Tanacetum parthenium* – excipients. Whit the optimus excipients we carry out the elaboration of direct compression of tablet of leaves powder of *Tanacetum parthenium*. Following their corresponding process controls and quality control of the tablets.

The herbal medicines as well as the sintetic medicines requires of the a quality control for their elaboration, for herbal medicines the quality control begins with cultivation of the plant and culminates with final product.

LISTA DE TABLAS

		Página
Tabla 1	Principales constituyentes químicos de <i>Tanacetum parthenium</i>	34
Tabla 2	Número más probable para usar con diluciones decimales y cinco tubos por dilución.	68
Tabla 3	Control de calidad del material vegetal (Hojas de <i>Tanacetum parthenium</i>)	84
Tabla 4	Resultados de las pruebas bioquímicas para bacterias presentes en las hojas de <i>Tanacetum parthenium</i> , así como los resultados reportados en la bibliografía para enterobacterias y <i>P. aeruginosa</i>	87
Tabla 5	Reología de las hojas pulverizadas de <i>Tanacetum parthenium</i>	91
Tabla 6	Distribución del tamaño de partícula de las hojas de <i>Tanacetum parthenium</i>	92
Tabla 7	Evaluación por apariencia física de las hojas pulverizadas de <i>Tanacetum parthenium</i> (Cambio de color, aspecto y olor)	96
Tabla 8	Cambios observables de los máximos de absorbancia de la mezcla de excipiente-hoja, comparado con el máximo de absorbancia del extracto metanólico de las hojas de <i>Tanacetum parthenium</i>	96
Tabla 9	Formulaciones preliminares	98
Tabla 10	Fórmula de la tableta final	98
Tabla 11	Reología de la mezcla de polvos del lote MMAN-1-5	100
Tabla 12	Reología de la mezcla de polvos del lote MMAN-1-6	101
Tabla 13	Reología de la mezcla de polvos del lote MMAN-1-7	102
Tabla 14	Control del proceso lote MMAN-1-5	106
Tabla 15	Tabletas sin recubrir lote MMAN-1-5	106
Tabla 16	Tabletas recubiertas lote MMAN-1-5	106
Tabla 17	Control del proceso lote MMAN-1-6	107
Tabla 18	Tabletas sin recubrir lote MMAN-1-6	107
Tabla 19	Tabletas recubiertas lote MMAN-1-6	107
Tabla 20	Control del proceso lote MMAN-1-7	108
Tabla 21	Tabletas sin recubrir lote MMAN-1-7	108
Tabla 22	Tabletas recubiertas lote MMAN-1-7	108

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Schultz-Bip., Asteraceae	33
Figura 2 Relajación del músculo liso de aorta de rata	79
Figura 3 Cromatogramas generados por CG-EM	80
Figura 4 Cromatografía en capa fina	83

LISTA DE GRÁFICAS

	Página
Gráfica 1 Por ciento de compactación de las hojas pulverizadas de <i>Tanacetum parthenium</i>	91
Gráfica 2 Histograma de la distribución del tamaño de partícula, de las hojas pulverizadas de <i>Tanacetum parthenium</i>	92
Gráfica 3 Por ciento de compactación de la mezcla de polvos, lote MMAN-1-5	103
Gráfica 4 Por ciento de compactación de la mezcla de polvos, lote MMAN-1-6	103
Gráfica 5 Por ciento de compactación de la mezcla de polvos, lote MMAN-1-7	104

LISTA DE DIAGRAMAS

	Página
Diagrama 1 Metodología general para el control de calidad y elaboración de tabletas de las hojas de <i>Tanacetum parthenium</i>	58

APÉNDICE

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1a	Termograma de la hoja pulverizada. Equipo Perkin-Elmer DSC7, flujo de nitrógeno 25 mL/min, velocidad de calentamiento 15 °C/min. 126
Figura 2a	Termograma de la hoja pulverizada-lactosa monohidratada. Equipo Perkin-Elmer DSC7, flujo de nitrógeno 25 mL/min, velocidad de calentamiento 15 °C/min. 126
Figura 3a	Termograma de la hoja pulverizada-celulosa microcristalina (100). Equipo Perkin-Elmer DSC7, flujo de nitrógeno 25 mL/min, velocidad de calentamiento 15 °C/min. 126
Figura 4a	Termograma de la hoja pulverizada-celulosa microcristalina (200). Equipo Perkin-Elmer DSC7, flujo de nitrógeno 25 mL/min, velocidad de calentamiento 15 °C/min. 126
Figura 5a	Termograma de la hoja pulverizada-fosfato de calcio dibásico. Equipo Perkin-Elmer DSC7, flujo de nitrógeno 25 mL/min, velocidad de calentamiento 15 °C/min. 127
Figura 6a	Termograma de la hoja pulverizada-estearato de magnesio. Equipo Perkin-Elmer DSC7, flujo de nitrógeno 25 mL/min, velocidad de calentamiento 15 °C/min. 127
Figura 7a	Termograma de la hoja pulverizada-glicolato sódico de almidón. Equipo Perkin-Elmer DSC7, flujo de nitrógeno 25 mL/min, velocidad de calentamiento 15 °C/min. 127
Figura 8a	Termograma de la hoja pulverizada-lactosa anhidra. Equipo Perkin-Elmer DSC7, flujo de nitrógeno 25 mL/min, velocidad de calentamiento 15 °C/min. 128
Figura 9a	Termograma de la hoja pulverizada-plasdone. Equipo Perkin-Elmer DSC7, flujo de nitrógeno 25 mL/min, velocidad de calentamiento 15 °C/min. 128
Figura 10a	Termograma de la hoja pulverizada-aerosil. Equipo Perkin-Elmer DSC7, flujo de nitrógeno 25 mL/min, velocidad de calentamiento 15 °C/min. 128

APÉNDICE

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 1a	Carta de control por variables lote MMAN-1-5	129
Gráfica 2a	Carta de control por variables lote MMAN-1-6	130
Gráfica 3a	Carta de control por variables lote MMAN-1-7	131

LISTA DE ABREVIATURAS

cm	Centímetro
mm	Milímetro
°C	Grados centígrados
g	Gramos
mg	Miligramos
L	Litros
mL	Mililitros
µL	Microlitros
µg	Microgramos
p/p	Peso en peso
ppm	Partes por millón
h	Hora
Kg	Kilogramo
seg	Segundo
min	Minuto
ng	Nanógramo
nm	Nanometro
t _R	Tiempo de retención
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
CHCl ₃	Cloroformo
UV	Ultravioleta
mV	Milivoltios
%	Porcentaje
BBLCRYSTAL	Equipo para la identificación de patógenos entéricos/no fermentadores
CI ₅₀	Concentración inicial 50
CG-EM	Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas

Nota. Con la finalidad de evitar confusiones, las abreviaturas para litros, mililitros y microlitros, se señalarán con la letra L mayúscula, no con minúscula como se indica en la ley de metrología.

1. INTRODUCCIÓN

Las plantas han proporcionado al hombre muchos beneficios entre los que destaca el uso medicinal. También han jugado un papel muy importante en la terapéutica de todos los tiempos. De las plantas medicinales se han aislado por lo menos 120 sustancias químicas, que pueden considerarse fármacos importantes de uso en la terapéutica de uno o más países (Farnsworth *et al.*, 1985). Por mencionar algunos ejemplos se pueden citar a la atropina, la codeína, la colchicina, digitoxina, vincristina, morfina, quinina, reserpina, fisostigmina, teofilina, tubocurarina, esticnina, efedrina, cocaína, salicina (Farnsworth *et al.*, 1985) y taxol (Wani *et al.*, 1971), entre otros. En este sentido, las organizaciones internacionales como la Organización Mundial de la Salud (OMS), han propuesto el uso de plantas medicinales como una alternativa viable para procurar la salud de los países en vías de desarrollo (OMS, 1992).

En los últimos 25 años las plantas medicinales han recobrado importancia, las compañías farmacéuticas han vuelto sus ojos nuevamente a estos recursos terapéuticos, ha surgido la comercialización internacional masiva de plantas y con ello han aparecido un gran número de productos en las formas más diversas, la mayoría de los cuales carecen de especificaciones y pruebas de control de calidad. Las pruebas de inocuidad, seguridad y eficacia, en general, no figuran en los medicamentos elaborados con plantas medicinales (Navarrete, 1996).

La medicina herbolaria ha tenido gran auge en los últimos tiempos, lo que ha permitido el surgimiento de una amplia variedad de productos herbolarios para su venta, los cuales están fuera de todo control. Lo cual puede representar un riesgo para la salud de la población.

Para el caso particular de *Tanacetum parthenium*, comúnmente conocida como Santa María, existen productos farmacéuticos en forma de tabletas y cápsulas de la hoja de esta planta. De los cuales no cuentan con estudios de control de calidad y de seguridad.

En este trabajo se realizó el control de calidad de las hojas de *Tanacetum parthenium*.

siguiendo los lineamientos propuestos por la OMS para material vegetal utilizado como materia prima para elaborar medicamentos herbolarios, se realizó también el estudio de compatibilidad entre varios excipientes y la planta para proponer una formulación de tabletas de *Tanacetum parthenium* obtenidas por compresión directa, determinando su control de calidad. También se realizó un estudio preliminar que demuestra que el extracto de *Tanacetum parthenium* que se cultiva en México tiene actividad como vasorelajante en la aorta de rata, a pesar de no contener entre sus metabolitos secundarios a la partenólida.

2. FUNDAMENTO TEÓRICO

2.1 PLANTAS MEDICINALES

2.1.1 PLANTAS MEDICINALES Y LA SALUD

Para nadie es un secreto que los medicamentos actuales, han tenido como base un sinnúmero de plantas de cuyas raíces, hojas, flores y semillas, el hombre a obtenido a lo largo de la historia el medio para mitigar o aliviar sus padecimientos. Por lo tanto las plantas medicinales han sido y continuarán siendo una fuente para la búsqueda de nuevos fármacos.

La mayoría de las grandes culturas como la China, India, Egipcia, Griega, y muy particularmente la nuestra han sabido aprovechar los portentosos beneficios que el reino vegetal aporta al bienestar humano, mediante el descubrimiento y uso de preparaciones naturales. En todo el mundo y en todas las épocas, los efectos curativos y preventivos de las plantas medicinales han sido objeto de profundos estudios, los cuales han dado como resultado la acumulación de conocimientos herbolarios que nos permiten saber cómo, cuándo y qué plantas utilizar en cada caso.

Con base en lo anterior, la investigación de las plantas medicinales tiene como objetivos: el entendimiento del sistema medico herbolario tradicional, el desarrollo fitoterapéutico a bajo costo, así como el descubrimiento de fármacos prototipo.

Esta visión del proceso de investigación determinó, a su vez, los pasos metodológicos a seguir. Primero, habría que seleccionar un material vegetal idóneo, para ello el camino más racional era utilizar la quimiotaxonomía. Un segundo paso consistiría en realizar un análisis fitoquímico de los compuestos presentes en la planta, extrayendo y aislando los compuestos de interés. A continuación, habría que diseñar un modelo de experimentación farmacológico utilizando modelos animales y pruebas *in vitro* modernas en las cuales se ensayaran, tanto los extractos como los compuestos puros extraídos de la planta, para detectar alguna acción farmacológica útil y proceder a sintetizar el compuesto para su estudio farmacológico, toxicológico y farmacéutico. Por último, se iniciarían los estudios clínicos, con sus respectivas fases que garantizaran la eficacia y seguridad del compuesto descubierto (Lozoya, 1997).

Para el estudio de las plantas medicinales es muy importante la participación de la medicina herbolaria indígena, debido a la experiencia que tienen estos grupos étnicos. Es común para algunas industrias el requerir del trabajo del indígena, para que les proporcionen información acerca de las plantas medicinales de su interés, pero es difícil encontrar apoyo, ya que estos grupos en la mayor parte de los casos no quieren participar, debido a que históricamente ninguna población nativa, así como tampoco ningún país ha compartido el extenso beneficio económico de algún fármaco que llegara a la venta, por lo que para ayudar a que estos grupos cooperen, es necesario un trabajo multidisciplinario y un beneficio económico el cual puede ser conseguido por medio de productos herbolarios comercializables. Como puede observarse, el estudio de los medicamentos herbolarios involucra una serie de dilemas sociopolíticos, económicos y éticos de varios niveles (Elisabetsky, 1991).

La ciencia de comienzos de siglo suponía que, una vez conocido el principio activo de una planta medicinal, ésta dejaba de tener importancia comercial. Se creyó que las plantas medicinales contenían, por lo general, un solo principio activo y que los demás metabolitos secundarios del vegetal eran innecesarios para el efecto curativo. Así, el extracto, la tintura, la poción o infusión fueron pasando a la historia de la farmacia como productos inseguros, difíciles de cuantificar y, sobre todo porque este tipo de medicamentos eran mezclas de demasiados componentes y su acción resultaba difícil de evaluar.

Los medicamentos herbolarios o fitomedicamentos tienen la desventaja de que muchos los consideran como placebos, y sumándose a lo anterior uno de los problemas fundamentales a los que se enfrentan es la complejidad que presentan las plantas en su composición química, ya que en la mayor parte de los casos se dificulta saber quien es el compuesto o compuestos responsables de la actividad terapéutica. Además, es frecuente el reporte del uso de una misma planta para tratar padecimientos diversos y es abundante el número de los remedios populares, consistentes en preparados basándose en mezclas de diferentes especies botánicas.

Las plantas medicinales se emplean como un primer recurso para problemas que no alteran la vida normal o ponen en peligro la vida. También se les busca como alternativa en caso de haber agotado otros medios. Sin embargo gozan de poco prestigio social, que contrasta con los altos

recursos del sistema médico oficial. Esta es una de las principales razones por las que, a pesar de que algunas plantas han mostrado su efectividad farmacológica mediante estudios controlados en el laboratorio, se les acepta en forma limitada.

En los últimos años en la medicina interna se ha querido introducir el uso de medicamentos herbolarios, debido a que se ha comprobado que tienen aplicación en las diferentes áreas de la medicina para tratar enfermedades del sistema nervioso locomotor, circulatorio, respiratorio, digestivo, urinario, genital femenino, genital masculino, dermatológicas, así como adelgazantes, estimulantes del apetito, etc. Para llevar a cabo lo anterior se tiene como respaldo que los proyectos de investigación generados en los últimos años se relacionan con plantas medicinales que han sido objeto de estudios farmacológicos por sus propiedades como antidiarreicos, sedantes del sistema nervioso central, hipoglucemiantes, antimicrobianos, antitumorales, etc. Los resultados de estos estudios sirven de ejemplo para reflejar la metodología general seguida, los alcances y las perspectivas de las investigaciones en el campo de la farmacología de plantas medicinales (Reuter, 1991).

Los avances de la tecnología moderna, que incorpora procesos biotecnológicos, han sido una importante herramienta aplicada al estudio fitoquímico y farmacológico de las plantas medicinales. La biotecnología provee de nuevos métodos para el desarrollo de mejores variedades de plantas con actividad biológica, y la implementación de metodologías con cultivos de tejidos constituye en la actualidad una herramienta fundamental para la producción masiva de las especies que se desean cultivar. El cultivo de algunas plantas medicinales en México tiene como propósito resolver el abastecimiento del recurso vegetal, ya sea para la obtención de compuestos (o de sus precursores) con actividad terapéutica, nuevas moléculas biológicamente activas, o bien con propósitos de comercialización. Por tal motivo es importante llevar a cabo un trabajo multidisciplinario entre botánicos, antropólogos, ecologistas, químicos, fitoquímicos, farmacólogos etc., que trabajen en colaboración para la obtención de mejores resultados en el estudio de la medicina tradicional para la obtención de nuevos medicamentos y agroquímicos. Así también se han ensayado los trasplantes de células vegetales en organismos animales con el fin de lograr que aquéllas ejerzan su acción curativa en éstos (Prance, 1991; Lozoya, 1993; Meckes *et al.*, 1993).

La medicina herbolaria es considerada como la medicina alternativa, ya que presenta la ventaja de que sus medicamentos son más seguros, eficaces y presentan menos efectos secundarios en comparación con los medicamentos de origen sintético, por lo tanto se esta abriendo paso en estos últimos años presentándose como otra opción para el tratamiento de muchas enfermedades y tienen como apoyo que la cuarta parte, si no más de los fármacos empleados hoy en los países industrializados proceden o se han modelado a partir de productos vegetales. Además, el uso de las plantas medicinales no se limita sin embargo, a aquella que le da la farmacia tradicional, en forma de infusiones, decocciones, maceraciones o medicamentos herbolarios, ya que una gran cantidad de ellas son empleadas por la industria farmacéutica en la preparación de un amplio espectro de medicamentos. Sin contar a los usuarios de medicamentos obtenidos a partir del procesamiento industrial de las plantas medicinales, se ha calculado en 1500 millones la cantidad de seres humanos que recurren a medicinas y terapias tradicionales en la actualidad, de las cuales el 95 % son terapias de origen vegetal. Cerca del 60 % de las prescripciones farmacéuticas de los países industrializados contienen productos naturales, más de 500 plantas son utilizadas como materia prima para la elaboración de medicamentos y en Alemania, el 40 % de los medicamentos registrados se elaboran a partir de ellas. En el caso particular de los Estados Unidos, a pesar del modelo altamente tecnificado de atención médica, casi el 40 % de los medicamentos que se prescriben en la actualidad contienen este tipo de compuestos y por lo menos 119 productos obtenidos de las plantas son considerados como los medicamentos más importantes en su uso en todos los países industrializados. Estos 119 productos se obtienen de 91 especies botánicas, la mayoría de las cuales pueden ser adaptadas a cultivos en prácticamente cualquier nación del mundo. En México la situación no es diferente y se estima que aproximadamente 60% de los habitantes, utilizan plantas medicinales para tratar diversos padecimientos.

La importancia que reviste desarrollar la industria de plantas medicinales en el país, no obedece tan solo a la necesidad de resolver los problemas de salud, desde un punto de vista comercial, es evidente la potencialidad del recurso. Sin embargo, para satisfacer las demandas de un mercado de plantas medicinales, no es posible imaginar la obtención de un recurso que hasta la fecha se propaga de manera silvestre. Es inminente el desarrollo de programas de cultivo en

gran escala, alternativa que permitirá contar con un material vegetal que garantice el control, explotación y su conservación, con perspectivas para su incorporación en el cuadro básico de medicamentos, su industrialización y mercado, ya sea como especies íntegras, fracciones, sustancias puras y en diferentes formas farmacéuticas (Reuter, 1991; Aguirre, 1993; Lozoya, 1997; Meckes, 1993).

En los últimos 30 años ha tenido lugar un renacimiento de la investigación de plantas medicinales en el mundo y hoy presenciamos el surgimiento de novedosos medicamentos herbolarios en Europa, Asia y Estados Unidos que parecen retomar un camino antes abandonado por la ciencia.

En países Europeos como Alemania, Francia y la Gran Bretaña los requerimientos legales establecidos de los productos herbolarios tienen como base pruebas químicas y farmacológicas, estos estudios se realizan con la finalidad de conocer la eficacia y seguridad del producto. Con la finalidad de darle un mayor apoyo a los medicamentos herbolarios en Europa se fundó la European Corporation of Phytotherapy (ESCOP), donde participan países como Alemania, Bélgica, Suiza, entre otros. El objetivo de la ESCOP es analizar el estatus regulatorio de los medicamentos herbolarios, así como promover su aceptación dentro de la medicina. En México se cuenta con la regulación emitida por la Secretaría de Salud (Lozoya, 1993; Reuter, 1991; Secretaría de Salud, 1998).

2.1.2 MEDICAMENTOS HERBOLARIOS

Podemos definir **medicamento herbolario** de acuerdo al segundo suplemento de la FEUM, México 1998, como "los productos elaborados con material vegetal o algún derivado de éste, cuyo ingrediente principal es la parte aérea o subterránea de una planta o extracto y tinturas, así como jugos, resinas, aceites grasos y esenciales, presentados en forma farmacéutica, cuya eficacia terapéutica y seguridad ha sido confirmada científicamente en la literatura nacional e internacional". La utilización de plantas medicinales, en forma de productos naturales es muy

variada. ha generado un mercado sorprendente. Han surgido, en escasos 15 años, novedosas industrias europeas y asiáticas que promueven el consumo de medicamentos, una estrategia que combina los procedimientos industriales de la tecnología moderna con la demanda social de recursos avalados por la tradición cultural. logrando un nuevo tipo de productos que se escapan a la clasificación y a la legislación convencional de los sistemas de salud de occidente. Industrias de China, Corea, Japón, Alemania, Suiza, Italia, Francia y España, inundan los mercados urbanos del resto del mundo con medicamentos herbolarios para un público ávido de utilizar formas curativas alternativas.

Algunos de estos productos han sido investigados, desde el punto de vista de su baja o nula toxicidad y se han fundamentado los beneficios de industrializarlos en formas farmacéuticas "crudas" (es decir, en forma de extractos, de combinaciones de varias hierbas, como liofilizados de extractos acuosos, etc.) apoyados en una concepción farmacológica distinta a la promulgada por los consorcios químico-farmacéuticos "ortodoxos" que, en términos generales, siguen combatiendo la validez de dicho enfoque que amenaza con modificar, en su contra, el mercado de medicamentos. También es cierto que este novedoso mercado esta siendo distorsionado con un número notable de productos que no poseen estudios ni información validada sobre las propiedades medicinales que se les atribuyen y que aprovechan la demanda con propósitos exclusivamente comerciales.

En México han surgido compañías que procuran competir en la producción de medicamentos herbolarios, diseñando productos cuya presentación comercial depende del grado de acceso que se tenga a la tecnología moderna y a la información, en el ámbito nacional. Estos medicamentos herbolarios se fundamentan en el uso tradicional que los mexicanos hacen de la herbolaria prehispánica y colonial y, apoyados en una anticuada bibliografía sobre plantas medicinales que pervive de épocas pasadas, se enfrentan a la dificultad de obtener los registros legales correspondientes que permitan su libre acceso al mercado moderno. La gran mayoría de las plantas que se emplean para la elaboración de estos productos se colectan en zonas del país donde crecen en forma silvestre ya que prácticamente ninguna planta medicinal se cultiva en México con fines agroindustriales, por lo que la calidad de estos productos es precaria.

Pendientes del interés del público por consumir plantas medicinales, las empresas nacionales procuran proveer con "novedades" que tengan repercusión comercial, introduciendo, por ejemplo, plantas con efectos diuréticos y ricas en fibra, para quienes buscan bajar de peso o bien, elaboran antitusígenos, antidiarreicos y espasmolíticos con base a recetas de las farmacopeas mexicanas de tiempos pasados. Estas circunstancias determinan el cuadro general que tiene el consumo de plantas medicinales en el México actual y que va desde el ancestral puesto de hierbas frescas en miles de mercados del país, hasta el consumo de productos procesados industrialmente con muy diversos niveles de calidad y fundamento, pero que se distribuyen en los mercados urbanos. En los últimos años y ante la carencia de una legislación adecuada, han ingresado al país cientos de medicamentos herbolarios de origen extranjero que, de igual manera, dependiendo de la capacidad tecnológica y económica de las industrias que los fabrican ofrecen multitud de alternativas para el manejo de los problemas de salud más comunes, pero cuya validez científica es igualmente dudosa o insuficiente (Lozoya, 1993).

Si se aplica la técnica y la ciencia a los cultivos de plantas (recolección, deshidratación, extracción) y presentándolo como forma farmacéutica, todo ello con garantías de correcta fabricación, validación pertinente y las ayudas gubernamentales, así como desarrollando el marco legal que permita registrar los medicamentos herbolarios y dándole las mismas prerrogativas que a las medicinas sintéticas y por supuesto con la garantía de seguridad y efectividad, los medicamentos herbolarios serán aceptados, pues la sociedad lo está demandando.

La forma más usual en que las plantas medicinales son consumidas por la población es en forma de decocción, infusión, etc., donde la cantidad de planta puede ser desde una cucharada, una cucharadita o un "puñito" y por lo tanto no se tiene controlada la cantidad de planta a emplear, así como tampoco la cantidad de agua empleada, ya que se recomienda 240 mL, pero esto no es un estándar que la gente siga, por lo que la cantidad extraída es un valor impreciso. Para tener un mayor control en la dosificación de la planta empleada se le ha dado más importancia a las bolsas de té. Pero también se tiene la desventaja de no conocer con exactitud la cantidad extraída, además de que existen compuestos insolubles en agua. Por lo expuesto anteriormente y con la finalidad de tener un mayor control en la dosificación, en los últimos años

se han introducido al mercado formas farmacéuticas para productos herbolario, llamados **fitomedicamentos o medicamentos herbolarios**, donde se emplea la planta completa, una parte de la misma (hoja, tallo, raíz, corteza, etc.), o un extracto y se presentan en forma de: jarabes, cápsulas, tabletas, ungüentos, elixier, entre otras, como se presentan a continuación (Tyler, 1997; Escamilla *et al.*, 1995).

2.1.2.1 Té

Una de las formas fitofarmacéuticas más simples son los tés o infusiones, los cuales son elaborados con una planta o mezcla de ellas, están constituidos esencialmente por una planta seca pulverizada contenida dentro de un sobre.

A. VENTAJAS.

- Este tipo de medicamento en general no requiere de excipientes.
- No requiere del empleo de tecnología sofisticada.
- Relativa facilidad en la dosificación.

B. DESVENTAJAS.

- En algunas plantas aromáticas se presenta pérdida del aroma, el sabor y en algunas ocasiones del principio activo.

2.1.2.2 Jarabes.

La Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (séptima edición) define un jarabe como “una solución oral acuosa, con una concentración de un 60% a un 80% de azúcar u otros carbohidratos como sorbitol, dextrosa y en la que se encuentran disueltos los activos o aditivos”.

A. VENTAJAS.

- Una buena biodisponibilidad debido a que los principios activos se encuentran ya disueltos, por lo cual se facilita su absorción y su efecto farmacológico en el organismo.
- Apariencia: olor, color y sabor agradable.
- Facilidad de deglución.

B. DESVENTAJAS.

- Alta susceptibilidad a un ataque microbiano, como consecuencia de la presencia de carbohidratos y agua.
- No se puede administrar a pacientes diabéticos.
- Son relativamente pocos los activos que son solubles en agua.

2.1.2.3 Cápsulas.

La Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (séptima edición) define a las cápsulas como "formas farmacéuticas sólidas en las que se encuentra el principio activo o la sustancia activa en forma sólida o líquida, incluida en un contenedor o cubierta soluble de gelatina blanda o dura". Las cápsulas ocupan un importante lugar en la comercialización de las formas fitofarmacéuticas.

A. VENTAJAS

- Versatilidad para introducir en ellas múltiples sustancias sólidas y líquidas.
- Sencillez en su método de fabricación.
- Protección de la sustancia activa.
- Relativa facilidad en la deglución.
- Fácil identificación debido al color de la cápsula.
- Propiedades estéticas.

B. DESVENTAJAS.

- Alta sensibilidad a la humedad.
- Condiciones específicas de almacenamiento.
- Interacción cápsula-contenido.

2.1.2.4 Tabletas

Una tableta se define como aquella forma de dosificación que se obtiene por el efecto de la compresión de sus componentes. Las tabletas elaboradas con plantas, pueden ser a base de polvo de la planta, extractos fluidos, extractos secos estandarizados, así como aceites esenciales.

A. VENTAJAS.

- Dosis única.
- Estabilidad física, química y microbiológica debido al bajo contenido de agua.
- Versatilidad en forma, tamaño y dosis.
- Fácil transporte para el consumidor.

B. DESVENTAJAS.

- No es de fácil administración en niños y ancianos o en personas con problemas de deglución o inconscientes.

2.1.2.5 Ungüentos.

Los ungüentos son formas de dosificación tópicas o locales de consistencia blanda, que contienen las sustancias activas incorporadas en una base apropiada que le da consistencia y sirven para la aplicación en la piel y las mucosas.

A. VENTAJAS.

- Fácil administración.
- Bajo costo.
- Facilidad de incorporación de sustancias liposolubles.

B. DESVENTAJAS

- Baja homogeneidad del producto.
- Dificil remoción de las trazas del ungüento en la ropa.
- Fácil contaminación.
- Inestabilidad.

2.1.2.6 Extractos o tinturas.

Gran parte del mercado fitofarmacéutico, está cubierto por extractos hidroalcohólicos de algunas plantas medicinales.

Esta forma de dosificación presenta características muy singulares debido a la versatilidad de sustancias que en ellas se pueden introducir, generalmente contienen sustancias saborizantes y/o aromatizantes, el contenido de alcohol puede ser del 5% al 18%. Las tinturas son extractos de

plantas, preparados con alcohol etílico de varias concentraciones, éter o mezclas de éstos. Una parte de la planta se extrae con más de 2 partes pero no más de 10 partes del disolvente.

Este tipo de formulaciones deben protegerse de la luz. Los cambios comunes ocurren en su apariencia, principalmente la turbidez u opacidad, sedimentación y cristalización de sus componentes.

En las preparaciones de plantas, la capacidad bacteriostática de alcohol a más del 15% debe tomarse con reserva, ya que es posible el crecimiento de microorganismos aún en preparaciones con el 40% de alcohol, ya que las preparaciones fitofarmacéuticas frecuentemente representan medios nutrientes para los microorganismos. Algunos extractos son autoconservadores, principalmente aquellos que contienen antraquinonas, de las cuales se conocen bien sus propiedades bactericidas.

Para algunos otros es necesario adicionarles conservadores. En la conservación de tinturas alcohólicas, la estabilidad de los conservadores derivados de los p-hidroxibenzoatos, se incrementa en el orden metil, etil, propil y butil éster. La solubilidad en el alcohol del éster butílico es adecuada, por lo que es el conservador de elección para las tinturas y elixir. Desde el punto de vista fisicoquímico, presentan aspectos similares a los jarabes y en general a cualquier solución para consumo terapéutico. Los problemas más frecuentes involucrados en la fabricación de estos productos, se refieren a la precipitación de algunas sustancias que se encontraban disueltas inicialmente, así como a cambios de coloración o inestabilidad química de los mismos (Escamilla *et al.*, 1995).

2.1.3 CONTROL DE CALIDAD DE LOS MEDICAMENTOS HERBOLARIOS

Podemos definir a la **calidad** de acuerdo a la ISO 8402, como la totalidad de características de una entidad que define su habilidad para satisfacer necesidades establecidas e implícitas. El mantener un control de calidad de los medicamentos herbolarios es más complicado que los medicamentos sintéticos, debido a que su composición es más compleja, ya que se ven implicados varios factores. 1. La constitución química, debido a que no sólo contienen un

principio activo, sino una mezcla compleja de compuestos y debido a esto muchas veces no se conocen el o los principios activos responsables de la actividad biológica. 2. Esta constitución química compleja puede variar dependiendo de la zona donde fue cultivada la planta y como consecuencia, la actividad biológica puede variar. Debido a lo mencionado anteriormente es necesario realizar un control de calidad a la parte de la planta empleada (hoja, tallo, raíz, flor), como materia prima para la elaboración del medicamento herbolario, para asegurar la calidad, eficacia y seguridad del producto (Bauer, 1998).

Una materia prima farmacéutica es aquella sustancia de cualquier origen que se usa para la elaboración de medicamentos, quedando incluidos los principios activos y los excipientes (Escamilla *et al.* 1995; OMS, 1988).

Cultivo del material vegetal. El cultivo de las plantas medicinales puede tener gran influencia en la calidad y en la elaboración de los medicamentos herbolarios. En este sentido, se deben evitar variaciones genéticas y con ello cambios de los metabolitos secundarios de las plantas, principalmente aquellos relacionados con el principio activo. También deben considerarse las diferencias en el contenido de sustancias activas en las diferentes partes de la planta y durante su crecimiento, por lo que se recomienda utilizar siempre la misma parte de la planta y en la misma fase de desarrollo. Las plantas infectadas con virus, hongos, bacterias o aquellas que hayan sufrido el ataque por insectos fitófagos, no deben utilizarse para la fabricación de los medicamentos. Algunos factores ambientales como el lugar de cultivo, el tipo de suelo, la cantidad de nutrientes, la contaminación del suelo con agroquímicos, etc., pueden afectar considerablemente a la calidad de las plantas (Escamilla *et al.*, 1995).

2.1.3.1 Autenticidad botánica.

Las plantas utilizadas para elaborar medicamentos herbolarios deben contar con un certificado de autenticidad botánica emitido por un botánico, en el que certifique que la planta corresponde al género y especie predeterminada para la elaboración del medicamento (Escamilla *et al.*, 1995).

2.1.3.2 Elementos Extraños.

Antes de moler o pulverizar el material vegetal, debe separarse por medios mecánicos o por cualquier otro medio adecuado, las piedras, polvo, terrones y otros materiales inorgánicos extraños.

La parte de la planta empleada debe estar exenta de enmohecimiento, de insectos y de otras contaminaciones de origen animal. No deben presentar olores anormales, decoloración u otros signos evidentes de deterioro.

Los elementos extraños están constituidos, en su totalidad o en parte, por:

- 1) Partes extrañas: todo elemento que procede de la planta originaria pero no constituye la parte empleada.
- 2) Materias extrañas: todo elemento ajeno a la planta de origen, de procedencia vegetal o mineral (FEUM, 2000; Real Farmacopea Española, 1997; Trease y Evans, 1989).

2.1.3.3 Contenido de Cenizas

Cuando el material vegetal se incinera, deja una ceniza inorgánica que, en el caso de muchas plantas (rubarbo, por ejemplo), varía entre límites amplios y por lo tanto, tiene escaso valor para fines de tipificación. En otros casos (como en el regadiz), el contenido en cenizas totales es importante e indica, en cierta medida, el cuidado que se ha tenido en la preparación de la droga, y permite medir la cantidad de material "remanente" después de incinerar el material vegetal. Normalmente, las cenizas totales se componen de carbonatos, fosfatos, silicatos y sílice. Las cenizas insolubles en ácido miden la presencia de sílica, especialmente arena y tierra de sílice. Las cenizas insolubles en ácido son el residuo obtenido después de tratar las cenizas totales con ácido clorhídrico diluido, se expresa con respecto a 100 g de material vegetal (Escamilla *et al.*, 1995; Trease y Evans, 1989; OMS, 1988; Real Farmacopea Española, 1997).

2.1.3.4 Fibra cruda

Se expresa en porcentaje del peso de la muestra y es un control con el mismo significado que en los productos alimenticios, donde se evalúa a los carbohidratos no digeribles para el ser humano, como la celulosa y lignina, entre otras (Escamilla *et al.*, 1995).

2.1.3.5 Determinación de material extraíble.

La determinación de las materias extractivas hidrosolubles o alcohol-solubles se utiliza como medio de valoración de plantas cuyos componentes no pueden determinarse fácilmente por otros procedimientos. Se determina la cantidad de material extraíble con diferentes disolventes y se especifica como sustancias extraíbles en alcohol, alcohol diluido y en hexano. Se determina además la cantidad de sustancias no volátiles solubles en éter, las sustancias volátiles solubles en éter y las sustancias estables solubles en agua. En ciertos casos, la extracción de la planta es por maceración, en otros por un proceso de extracción continua. Los valores de estos resultados no deben variar en forma apreciable de lote a lote. Esta prueba es indicativa de la homogeneidad en el material vegetal que se está empleando (Escamilla *et al.*, 1995; Trease y Evans, 1989).

2.1.3.6 Determinación de la pérdida al secado y contenido de agua.

La compra de material vegetal que contienen un exceso de humedad, no sólo es antieconómica, sino que, además a una temperatura adecuada, la humedad puede provocar la activación de enzimas y crear condiciones favorables para la proliferación de microorganismos. Como la mayoría del material vegetal, contiene todos los elementos esenciales para la nutrición de mohos, insectos y ácaros, el deterioro puede ser muy rápido una vez iniciada la infestación. Los límites para la cantidad de agua varían con cada planta. Esto es especialmente importante para el material que absorbe humedad fácilmente o se deteriora rápidamente, en presencia de agua (Trease y Evans, 1989; OMS, 1988). El contenido de humedad o de agua debe estar dentro de un rango en el cual el material vegetal no presente problemas para la elaboración del medicamento o bien sobre su estabilidad (Escamilla *et al.*, 1995).

2.1.3.7 Determinación del Índice de hinchamiento.

El índice de hinchamiento es el volumen en mililitros ocupado por un gramo de droga vegetal, incluyendo cualquier mucílago adherido a la misma, después de sometida a un proceso de hinchamiento en un líquido acuoso durante 4 horas (Real Farmacopea Española, 1997).

La determinación es aplicable a las drogas que contienen mucílago, siendo oficial para el agar (≥ 15) y semilla de lino (>4 para planta entera y ≥ 4.5 para polvo) (Trease y Evans, 1989).

2.1.3.8 Determinación del principio activo.

El principio activo de la planta debe cuantificarse, en el caso de que este sea conocido. Cuando no se conoce, con fines de control de calidad, se puede tomar como indicativo del contenido de sustancias activas a un metabolito de la planta cuya estructura esté bien definida y cuyo análisis sea relativamente fácil y rápido, o bien se puede anticipar por la cuantificación de un grupo de compuestos, tales como alcaloides, flavonoides, terpenoides, etc. Una prueba biológica que valore el contenido de principio activo sería deseable y de mayor utilidad cuando no se conoce el o los componentes responsables de la actividad biológica de la planta, pero desafortunadamente esta área no se ha desarrollado ampliamente para proporcionar métodos de evaluación de la actividad de los extractos crudos, que además sería de utilidad en la evaluación de la estabilidad de los medicamentos herbolarios (Bauer, 1998; Escamilla *et al.*, 1995).

2.1.3.9 Limite microbiano y ausencia de microorganismos patógenos.

Normalmente las plantas medicinales tienen gran número de bacterias y hongos, a menudo originarias del suelo. Un gran rango de bacterias y hongos de la naturaleza se presenta en las plantas, bacterias con esporas aeróbicas que son las que predominan frecuentemente. Las prácticas de cosecha y producción a menudo causa una contaminación adicional y un crecimiento de microorganismos. La ausencia de *E. coli* y hongos puede indicar una buena producción, así como una buena cosecha.

Los métodos para el control de microorganismos son restringidos. Por ejemplo, el uso de oxido de etileno ha sido prohibido dentro de los países asociados a la Comunidad Económica Europea (CEE). El tratamiento con irradiación ionizada requiere un especial registro de procedimientos y es también prohibido en algunos países.

En adición, la presencia de aflatoxinas en el material vegetal puede causar riesgo a la salud, aun si es introducida en cantidades muy pequeñas. Sin embargo, ellos podrían ser determinados después de un procedimiento de limpieza (OMS, 1988). El Ministerio de Salud de Alemania ha establecido límites para los medicamentos herbolarios Aflatoxina B1 (máximo 2 µg/Kg) y Aflatoxina B1, B2, G1, y G2 (máximo 4 µg/Kg) (Bauer, 1998).

plaguicidas conforme a un procedimiento establecido (OMS, 1988).

Muchas preparaciones a base de plantas son ingeridas por periodos de tiempo prolongado, por lo que los límites para los residuos plaguicidas podrían ser establecidos siguiendo las recomendaciones de la Food and Agriculture Organization (FAO) y el World Health Organization (WHO) (Codex Alimentarius), que incluyen productos alimenticios y alimentación animal. Estas guías recomiendan incluir la metodología analítica para la evaluación de residuos plaguicidas específicos (OMS, 1988).

Clasificación de plaguicidas.

Existen diferentes clasificaciones de plaguicidas, una clasificación se basa en la composición química y la estructura del plaguicida, la cual es de las más empleadas en química analítica (OMS, 1988).

- Hidrocarburos clorados o plaguicidas relacionados.
- Herbicidas.
- Plaguicidas organofosforados.
- Insecticidas de carbamatos.
- Fungicidas ditiocarbamatos.
- Plaguicidas inorgánicos.
- Miscellaneous.
- Plaguicidas de la planta original: hoja de tabaco y nicotina, flor de *pyrethrum*, extracto de piretroides.

Solamente los hidrocarburos clorados y plaguicidas relacionados (ej. aldrin, BHC, clordano, dieldrin, DDT), y pocos plaguicidas organofosforados (ej. carbofenotión) retienen una larga acción residual. Otros plaguicidas tienen una acción residual corta, por lo tanto se sugiere que cuando la duración a la exposición del plaguicida es desconocida, el material de la planta medicinal podría ser probado por la presencia o determinando el contenido de compuestos que contienen cloro y fósforo (OMS, 1988).

El método para la determinación de residuos plaguicidas generalmente es por cromatografía de gases. Por otro lado, si el plaguicida al que la planta ha sido expuesto es conocido o puede ser identificado por un análisis adecuado, se establece el método para la determinación de un residuo

plaguicida en particular que podría ser empleado para su control de calidad (OMS, 1988).

Limites máximos de residuos plaguicidas para plantas medicinales.

El limite de residuo máximo (LRM) para plantas medicinales, incluyendo sus preparados tal como tinturas, extractos, aceites, etc., pueden ser definidos en línea con los limites de residuos plaguicidas fijados por la FAO/WHO Codex Alimentarius, a los niveles más bajos aceptables para productos alimenticios vegetales. Ya que las plantas medicinales usualmente se toman en cantidades mucho menores que otros productos alimenticios, el LRM puede ser calculado con base en el máximo consumo diario aceptable de plaguicidas para humanos (CDA) y la dosis diaria máxima de plantas medicinales (DDM) (OMS, 1988).

Cuando la naturaleza del plaguicida al que el material vegetal ha sido expuesto es desconocida, es necesario determinar solamente el contenido total de cloro y basar el calculo en LRM del plaguicida más tóxico que contenga cloro (ej. aldrin o dieldrin) (OMS, 1988).

Los limites pueden ser determinados:

1. De acuerdo a la fórmula:

$$(CDA \times 60 \text{Kg(p.c.)} \times \text{factor de extracción}) / (DDM \times \text{factor de seguridad } 100)$$

Donde:

CDA: Consumo diario aceptable, valor de FAO/WHO

p.c.: Peso corporal

DDM: Dosis diaria máxima de la droga

Factor de extracción: Velocidad de transición del plaguicida de la planta en la preparación.

Factor de seguridad: Figura arbitraria, definida como 100, tomando en cuenta el riesgo del paciente.

2. De acuerdo con ciertos requerimientos nacionales, como:

- La Orden de Limites Máximos de plaguicidas de la República Federal Alemana del 24 de Junio de 1982, como el 18 Abril de 1984 y el 16 de Octubre de 1988 con especial referencia a la cantidad máxima permisible para el té y productos similares (OMS, 1988).
- Los valores de los lineamientos 1986, editados por la Central Determination and Appraisal Unit (CEBS) de la Oficina Federal de Salud de Berlín, para plomo, cadmio y mercurio.

A pesar de las altas cantidades de residuos presentes en ciertas plantas medicinales, solamente pequeñas cantidades permanecen después de un proceso de extracción debido a una baja solubilidad en agua o etanol (OMS, 1988).

Limites de Algunos plaguicidas

Plaguicida	Límite (mg/Kg)
Alaclor	0.02
Aldrin y Dieldrin (suma de ambos)	0.05
Clordane (suma de los isómeros cis-trans- y oxiclordane)	0.05
Clorfenvinfos	0.5
Clorpirifos	0.2
Clorpirifos - metilo	0.1
DDT (suma de p,p'-DDT, o,p'-DDT, p,p'-DDE y p,p'-TDE)	1.0
Deltametrina	0.5
Diazinon	0.5
Ditiocarbamatos (en CS ₂)	2.0
Endrin	0.05
Fonofos	0.05
Heptaclor (suma de heptaclor y de heptaclor-epóxido)	0.05
Hexaclorobenceno	0.1
Hexaclorociclohexano - Isómeros (distintos del γ)	0.3
Malatión	1.0
Paratión	0.5
Paratión - metilo	0.2

La evaluación toxicológica de residuos en plantas medicinales puede ser hecha de acuerdo al consumo de material por parte del paciente. La proporción entre el consumo del material y los alimentos podrían no exceder al 1% permisible, del consumo total por el hombre (OMS, 1988).

Por lo tanto es importante determinar la cantidad de residuos de consumo actual por el sujeto en la forma de dosis final. La cantidad de residuos de plantas medicinales es de significado toxicológico solamente si se ingiere en forma prolongada, como es en el caso de las semillas (OMS, 1988).

Similarmente, para residuos de metales pesados, el límite teórico máximo permisible, el valor del consumo semanal tolerable provisional (CSTP) de FAO/WHO, puede ser calculado empleando la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{CDA (mg/Kg)} \times 60 \text{ Kg peso} \times \text{factor extracción}}{\text{El consumo medio diario de planta(Kg)} \times \text{factor seguridad } 100} = \text{LRM Teórico}$$

Esta fórmula esta basada en el Consumo Diario Aceptable (CDA), determinada por FAO y WHO.

2.1.3.11 Determinación de arsénico y metales pesados.

La contaminación del material vegetal con arsénico y metales pesados puede ser atribuida a muchas causas como el medio ambiente y las trazas de plaguicidas. El material vegetal puede contener trazas de arsénico, debido a su tratamiento con ciertos plaguicidas. Los límites se establecen en términos de microgramos por gramo de planta. La determinación de metales pesados es una prueba de rutina en las materias primas utilizadas para la elaboración de medicamentos herbolarios, dado que las concentraciones de metales pesados en las plantas son siempre muy bajas, la técnica deberá de ser consistente y sensible, para determinar la cantidad de plomo, cadmio y mercurio en la muestra al compararla con la referencia, por lo que se recomienda el análisis mediante técnicas de absorción atómica tras un tratamiento con ácido perclórico - ácido nítrico. Las siguientes cantidades son las máximas permisibles para el material vegetal seco y están basadas en los valores CDA, las cuales son: plomo 10 ppm, cadmio 0.3 ppm y mercurio 0.1 ppm (OMS, 1988; Bauer, 1998; Escamilla *et al.*, 1995).

2.1.3.12 Prueba de inocuidad y toxicidad.

Los lineamientos de la OMS, señala que a las plantas utilizadas para elaborar los medicamentos herbolarios, se les debe determinar la dosis letal que provoca el 50% de muerte en animales de experimentación, este parámetro es conocido como DL₅₀ y es determinado para varias vías de administración (Escamilla *et al.*, 1995).

2.4.1 REGULACION DE MEDICAMENTOS HERBOLARIOS

Europa es el continente que cuenta con más documentación de tipo regulatorio con respecto a este tema. En el Reino Unido la National R & D ha incluido en sus estudios, el desarrollo de varias áreas como el análisis químico, el aseguramiento biológico del material vegetal, así como de los medicamentos herbolarios. En donde se pone principal atención a la tecnología empleada en el proceso de fabricación (Wijesekera, 1991).

Con respecto a Alemania, el estatus legal de los medicamentos herbolarios esta definido por la ley de Medicamentos del 24 de Agosto de 1976 en la versión de la cuarta ley de Abril de 1990. Donde los productos terminados para su venta requieren de autorización, para lo cual se consideran dos aspectos básicos; por un lado el pluralismo médico - científico, ya que en ese país la fitoterapia esta considerada dentro de las llamadas "Terapias particulares", junto con la homeopatía y otro tipo de medicinas y por otro lado existe la preocupación de proteger al consumidor de fármacos dañinos y/o ineficaces. Considerando estos dos requerimientos básicos, en 1978 se formo la llamada Comisión E. Formada por expertos en el campo de la fitoterapia. El objetivo de esta comisión fue evaluar la eficacia y seguridad de los medicamentos herbolarios. Los datos utilizados por la Comisión E, incluyeron los resultados obtenidos de evaluaciones clínicas y de la experiencia médica científicamente documentada (literatura científica y conclusiones colectivas de asociaciones médicas). Los resultados de esta comisión se han publicado como monografías en la *Bundesanzeiger* (Gaceta Federal). Aproximadamente 300 de estas monografías cubren la mayoría de las plantas medicinales económicamente importantes que se venden en Alemania. En 1998 se publicó la versión en inglés de las monografías de la Comisión E. Las monografías incluyen información sobre identidad, composición, uso, contraindicaciones, efectos secundarios, precauciones, dosificación, preparaciones y efectos de las plantas considerados efectivos. Para plantas inefectivas, se comenta sobre los riesgos en su consumo (Keller, 1991; Tyler, 1994); existe controversia sobre las expectativas de la comisión E, para algunos las monografías constituyen la mejor evaluación de utilidad disponible sobre medicamentos herbolarios, para otros se esperaba más de dichas monografías.

En Francia todos los medicamentos herbolarios están sujetos a regulaciones. Así como los medicamentos de origen químico y biológico, los medicamentos elaborados con plantas deben cumplir con criterios de calidad, seguridad y eficacia. Los nuevos medicamentos herbolarios han sido estudiados y evaluados con bases químicas, toxicológicas y clínicas.

Desde 1980, los expertos del Comité de la Farmacopea Francesa y el Comité de Licencias Francesa investiga y seleccionan los requerimientos, para tener un control de los mismos (Artigues, 1991).

En el campo de los medicamentos herbolarios los principales documentos que se solicitan son los siguientes:

- Lista de plantas.
- Monografías generales.
- Métodos analíticos empleados (Ejemplo: Control de contaminación microbiológica).
- Monografías del material vegetal.
- Monografía del Fitomedicamento.
- Notas técnicas para la farmacopea por requisito público (Artigues, 1991).

Los requerimientos para la licencia de productos médicos esta basada en la Directiva Europea. La concesión de la licencia se basa en tres criterios: calidad, seguridad y eficacia.

Desde 1981 el Comité ha indicado que en el campo de los fitomedicamentos, también deben tomarse en cuenta los “terapéuticos suaves” los cuales son considerados como una alternativa para los principios activos de origen sintético que presentan junto con una eficacia indiscutible, algunos efectos secundarios indeseables (Artigues, 1991)

Se pide el mismo nivel de requerimientos para otros medicamentos y ahora la CEE (Comunidad Económica Europea) tiene la misión de aplicar una guía en “Calidad de Fitomedicamentos”.

Una acción combinada de los comités de licencia y farmacopea han llevado a la colección de más información científica disponible a través de sistemas de farmacovigilancia. Esta información ha permitido conocer mejor la seguridad y eficacia de los fitomedicamentos y sus preparaciones (Artiges, 1991).

La OMS ha propuesto lineamientos para la evaluación de los medicamentos herbolarios, tales lineamientos incluyen los siguientes puntos:

1. Evaluación farmacéutica.
 - Material vegetal crudo
 - Preparado vegetal
 - Producto terminado
 - Estabilidad
2. Evaluación de la seguridad
 - Estudios toxicológicos
 - Documentación de la seguridad basada en la experiencia
3. Evaluación de la eficacia y uso recomendado
 - Actividad farmacológica
 - Evidencias requeridas para sustentar la indicación
4. Combinación de productos
5. Información del producto al consumidor
6. Promoción (Akerele, 1992).

Por otra parte, en México también tuvo repercusión la propuesta de la OMS surgida en los años setenta de revalorizar la medicina tradicional y sus plantas medicinales. Aunque en grado insuficiente y con numerosas dificultades, por tratarse de una estrategia que se contraponía a la tendencia médica y científica predominante, algunas instituciones mexicanas han venido realizando estudios de investigación etnobotánica, de farmacología y de química de plantas medicinales. Estas investigaciones se han realizado, primordialmente, en el Instituto Mexicano del Seguro Social, en la Universidad Nacional Autónoma de México, en la Universidad Autónoma de Chapingo y en el Instituto Politécnico Nacional. El nivel de conocimiento científico de los recursos herbolarios nacionales era aún deficiente, en comparación con lo logrado en otros países, ya que son pocas las plantas medicinales que han podido cursar por las diferentes etapas del proceso de investigación que exigen los actuales lineamientos oficiales y que son los que determinan la aceptación formal de un medicamento. Estos lineamientos, habiendo sido elaborados desde la perspectiva de la industria químico-farmacéutica internacional hace ya

muchos años. no contemplan aún el desarrollo y uso de medicamentos herbolarios. El desinterés oficial de tantos años por la herbolaria nacional se ha reflejado en una legislación que hoy resulta inadecuada y en la falta de información accesible a los médicos sobre temas de herbolaria. Se requiere conducir acciones concretas no sólo para promover la investigación nacional de las plantas medicinales y lograr un mejor manejo de los productos herbolarios existentes, sino también afrontar la embestida comercial de productos extranjeros que, con las características antes señaladas, influirá irremediabilmente en el mercado de medicamentos en los años venideros (Lozoya, 1993).

Pero es hasta estos últimos años que en México, se le ha dado la importancia a la regulación de los medicamentos herbolarios, por medio de la Secretaria de Salud, a través del Diario Oficial en su publicación del cuatro de Febrero de 1998 en los artículos: 1, 66-71, 88-98, 109, 129, 130, 140, 174, 175 y 198. así como también ha publicado una lista de plantas permitidas y prohibidas para utilizarlas como medicamentos herbolarios en el Diario Oficial del 15 de Diciembre de 1999 (Secretaria de Salud, 1998; Secretaria de Salud, 1999).

En 1988, la OMS elaboró un documento en el que describe los métodos para el control de calidad de plantas medicinales (OMS, 1988).

2.2 ANTECEDENTES SOBRE LA MIGRAÑA

La migraña, llamada también jaqueca, es una de las molestias más frecuentes en el ser humano, y la más común en los pacientes atendidos por neurólogos. En un gran porcentaje de los individuos con dolor de cabeza se diagnosticará migraña, subtipo específico de cefalea que afecta a una proporción aproximada del 10 al 20% de la población. Es sorprendentemente limitado el número de fármacos eficaces para su tratamiento agudo. En comparación con otros campos de la farmacología, los métodos terapéuticos contra la cefalea han tenido un progreso mínimo durante los últimos 100 años (Peroutka, 1997).

La migraña es un síndrome neurológico específico que tiene gran variedad de manifestaciones. Al nivel más básico, la migraña sin aura, también conocida como migraña común, se puede describir como una cefalalgia pulsátil (casi siempre unilateral) con náusea concurrente. Se produce una fase premonitoria que puede durar hasta 24 horas antes de que aparezca la cefalalgia, y puede consistir en cambios de humor y apetito. La propia cefalalgia suele acompañarse de fotofobia, hiperacusia, poliuria, diarrea o una combinación de estas manifestaciones.

La crisis de migraña suele durar entre horas y días, y va seguido de intervalos prolongados libres de dolor. La frecuencia de la cefalalgia es variable en extremo, pero suele aparecer entre una y dos veces por año, y una y cuatro veces por mes. Las crisis pueden ir precedidas, además, por un fenómeno neurológico focal denominado "aura", también conocido como migraña clásica, que se presenta con mayor frecuencia como una alteración visual, pero que puede incluir cambios sensoriales, motores o de ambos tipos. Las áureas ocurren también sin cefalalgia concomitante (Beckett, 1990; Peroutka, 1997).

2.2.1 TEORÍA DE LA PATOGENIA DE LA MIGRAÑA.

Aunque siguen sin identificarse las bases fisiopatológicas de esta entidad patológica, se han propuesto diversas teorías para explicar este problema médico frecuente. A continuación, se

exponen algunas de las hipótesis principales relacionadas con su patogenia.

Teoría vascular.

Las anomalías del flujo sanguíneo cerebral parecen cumplir un papel clave en la patogenia de este trastorno. Con base en la teoría de Wolff, creada en los decenios de 1940 y 1950, la migraña se consideró un trastorno vasospástico. Se postuló que se producía vasoconstricción cerebral durante el pródromo de la migraña y que sobrevinía vasodilatación durante la fase de cefalalgia. A favor de esta teoría, en diversos estudios se ha comprobado una disminución del flujo sanguíneo cerebral durante el aura y un incremento del mismo durante la fase cefalálgica de la migraña.

Se ha puesto en duda la capacidad de estos cambios del flujo sanguíneo cerebral para inducir los síntomas de migraña. La disminución observada en el flujo sanguíneo no parece ser tan grave que dé lugar a síntomas neurológicos focales. En segundo lugar, por sí solo el aumento del flujo sanguíneo no es doloroso, y la vasodilatación no puede considerarse en sí como causa del edema local y de la hipersensibilidad focal que se observan a menudo en los pacientes con este padecimiento. Por tanto, es poco probable que la vasoconstricción y la vasodilatación simples sean las anomalías fisiopatológicas, básicas. Sin embargo, está, claro que durante algunas crisis se altera el flujo sanguíneo cerebral (Peroutka, 1997).

Depresión difusa.

Las investigaciones de Olesen y colaboradores (1985) han planteado la hipótesis de que la migraña es resultado de depresión difusa (extensiva) de la actividad eléctrica cortical ("depresión difusa de Leao"). Se trata de un fenómeno eléctrico observado en especies no humanas, que se produce en la corteza cerebral por acción ante estímulos nocivos. Ocurre reducción focal de la actividad eléctrica e incremento del flujo sanguíneo, y a continuación extensión (difusión) de estos fenómenos a través del hemisferio, a un ritmo de 2 a 3 mm/min (Peroutka., 1997).

Anomalías serotoninérgicas.

La serotonina (5-hidroxitriptamina; 5-HT) es una amina biógena neurotransmisora a la que se

le ha atribuido la patogenia de la migraña. Estudios bioquímicos han demostrado anomalías de los sistemas serotoninérgicos en este trastorno. Se ha informado que las concentraciones plasmáticas y plaquetarias de 5-HT varían durante las diferentes etapas de la crisis. Al mismo tiempo, se excretan cantidades incrementadas de 5-HT y sus metabolitos en la orina durante la mayor parte de las crisis. Se inclina también a favor de una función de la 5-HT en este trastorno la observación de que la migraña puede ser desencadenada por fármacos como reserpina y fenfluramina, que producen descarga de esta amina biógena desde las reservas tisulares (Peroutka, 1997).

Otras hipótesis.

Se han propuesto muchas teorías para explicar la patogenia de la migraña. En la evolución de una crisis pueden ser factores primarios o secundarios las alteraciones en los sistemas de neurotransmisores, las estructuras anatómicas y el sistema nervioso autónomo (Peroutka, 1997).

2.2.2 TRATAMIENTO DE LA MIGRAÑA.

La migraña se puede tratar por medios farmacológicos mediante un programa de medicación intensivo, profiláctico o combinado. En la elección del método, se deben considerar diversos factores como frecuencia y gravedad de la cefalalgia, edad del paciente, antecedentes de reacción a las medicaciones, contraindicaciones y efectos adversos potenciales. Además es necesario valorar la presencia de otros tipos de cefalalgia, para establecer criterio terapéutico óptimo.

La selección del método terapéutico apropiado debe basarse en una valoración detallada de la frecuencia y gravedad de la migraña.

Se recomienda seguir un criterio escalonado en la farmacoterapia de la migraña. La migraña leve se caracteriza por cefalalgias pulsátiles ocasionales sin trastorno del desempeño individual, y se puede tratar con analgésicos leves o con una combinación de éstos. La migraña moderada, que se define como la existencia de cefalalgias moderadas a graves con náusea, y que producen cierto trastorno del desempeño, se trata con medicaciones agudas selectivas para ese trastorno, como

alcaloides del cornezuelo del centeno o sumatriptán. La forma más grave de migraña requiere el empleo de agentes profilácticos además de los fármacos para terapéutica aguda y antieméticos (Peroutka, 1997).

2.2.3 FÁRMACOS USADOS PARA EL TRATAMIENTO AGUDO DE LAS FORMAS DE MIGRAÑA MODERADA Y GRAVE.

Cornezuelo de centeno y sus alcaloides.

Desde el decenio de 1920 se reconoce la eficacia de los derivados del cornezuelo del centeno para combatir la migraña, hoy son todavía una clase de agentes terapéuticos de primera elección para el alivio agudo de la migraña moderada o grave. Sin embargo, estos alcaloides son fármacos no selectivos, puesto que interactúan con gran número de receptores de neurotransmisores, entre ellos todos los receptores 5-HT₁ y 5-HT₂ conocidos, lo mismo que los receptores adrenérgicos y dopaminérgicos (Peroutka, 1997).

Sumatriptán.

Su aparición para el tratamiento de la migraña fue un adelanto de gran importancia en la investigación preclínica y clínica de este trastorno. En el ámbito científico, los efectos farmacológicos selectivos del sumatriptán a nivel de los receptores 5-HT aportaron nuevas luces sobre la fisiopatología de la migraña. A nivel clínico, el sumatriptán es un compuesto de administración aguda muy eficaz contra la migraña. Su capacidad para disminuir en vez de exacerbar la náusea y el vómito de la migraña parece ser un avance terapéutico importante (Peroutka, 1997).

2.2.4 FÁRMACOS EMPLEADOS EN EL TRATAMIENTO PROFILÁCTICO DE LA MIGRAÑA GRAVE.

Existe un consenso general entre los neurólogos para tratar de manera profiláctica a los pacientes que tienen tres o más crisis de migraña cada mes si la intensidad del dolor cefalálgico es moderada o grave (Peroutka, 1997).

Antes de considerarse ineficaces, todos los medicamentos empleados en el tratamiento profiláctico deben valorarse por lo menos 6 a 12 semanas. Si muestran eficacia, se prosigue su uso durante seis meses. Dada la gran incidencia de remisión completa de la migraña, la medicación se puede interrumpir después de seis meses, pero se reinstaurará para otra prueba de seis meses si se repiten crisis de igual frecuencia y gravedad (Peroutka, 1997).

Los fármacos utilizados como profilácticos de la migraña son:

- Antagonistas del receptor de 5-HT
- Antagonistas del receptor β -adrenérgico
- Inhibidores de la monoaminoxidasa
- Bloqueadores de la entrada de Ca^{2+}
- Otros fármacos en el tratamiento profiláctico de la migraña (Beckett, 1990)

Carbonato de litio

Bromocriptina

Heparina

Papaverina

Tanacetum parthenium

2.3 ANTECEDENTES SOBRE *Tanacetum parthenium* (L) Schultz-Bip., Asteraceae

2.3.1 DESCRIPCIÓN

Tanacetum parthenium Schlz-Bip es una planta perteneciente a la familia Compositae, también llamada científicamente *Chrysanthemum parthenium* L. Bernh., *Leucanthemum parthenium* (L.) Gren y Gordon, y *Pyretrum parthenium*. Se considera originaria de Irán, Irak y de Europa, adaptada a climas cálidos, semicálido, semiseco y templado. Se cultiva en huertos familiares, crece a orillas de caminos o en terrenos de cultivo (Argueta *et al.*, 1994).

En México esta planta es conocida como Altamisa, Santa María, Manzanilla silvestre, Matricaria, Quinina Silvestre, Amarganza, Hierba Santa, Mastranzo. Se encuentra distribuida en los estados de Chiapas, Oaxaca, Guerrero, Morelos, Tlaxcala y Veracruz. Se ha utilizado como febrífugo, para el tratamiento de la artritis, el asma y la migraña (Argueta *et al.*, 1994).

Es un arbusto pequeño de 15 a 60 cm de alto. Las hojas tienen un color verde amarillo, son alternas, pecioladas, ovaladas y divididas pinadamente, tienen los bordes lisos o crenados. Las flores, que aparecen en Julio a Octubre, están dispuestas en corimbos de hasta 30 piezas, con algunas florecillas blancas alargadas y otras amarillas en forma de disco con brácteas involucradas cubiertas de pelusa. Las flores se parecen a las de la manzanilla (*Matricaria chamomilla*) con la que algunas veces se confunde (Argueta *et al.*, 1994).

La planta cultivada en México carece de la presencia de partenólida, metabolito al que se le atribuye la actividad de la planta (Romo *et al.*, 1970).



Figura 1. *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz-Bip., Asteraceae.

2.3.2 CONSTITUCIÓN QUÍMICA

En la Tabla 1 se presentan los metabolitos secundarios aislados de *Tanacetum parthenium*.

TABLA 1. Principales constituyentes químicos de *Tanacetum parthenium*.

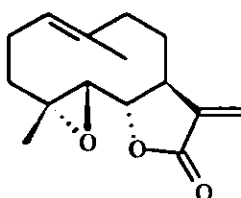
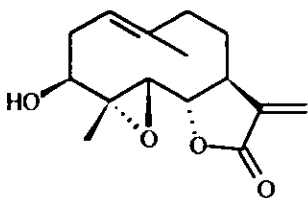
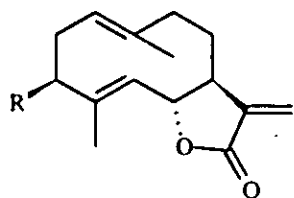
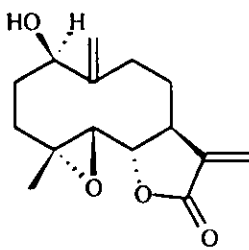
NOMBRE	ESTRUCTURA	REFERENCIA
Parténolida		Bohlmann y Zdero, 1982 Awang <i>et al.</i> , 1991 Groenewegen <i>et al.</i> , 1986 Banthorpe y Brown, 1989 Herout <i>et al.</i> , 1959 Quick y Rogers, 1975 Soucek <i>et al.</i> , 1960
3 β -hidroxiparténólida		Bohlmann y Zdero, 1982 Groenewegen <i>et al.</i> , 1986
R= H Costunólida R= OH 3 β -hidroxycostunólida		Bohlmann y Zdero, 1982
1 β -hidroxi-10, 14-dehido-1, 10 H-parténólida		Bohlmann y Zdero, 1982

TABLA 1. Principales constituyentes químicos de *Tanacetum parthenium* (Continuación)

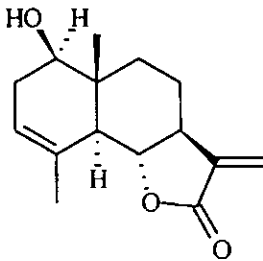
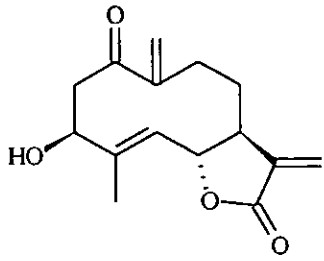
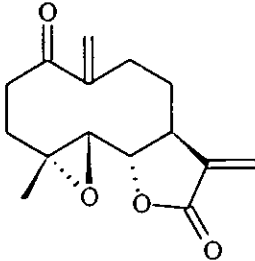
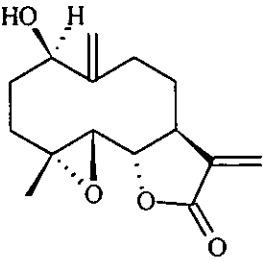
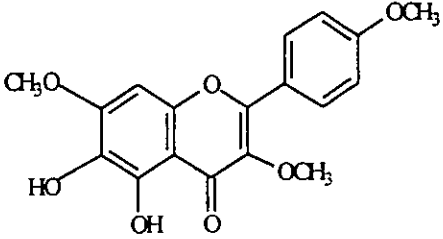
NOMBRE	ESTRUCTURA	REFERENCIA
Santamarina		Romo <i>et al.</i> , 1970 Romo de Vivar y Jiménez, 1965
3 β -hidroxi-anhidroverlоторina		Bohlmann y Zdero, 1982
Anhidroverlоторina 4 α , 5 β -epóxido		Bohlmann y Zdero, 1982
Epoxiartemorina		Dolman <i>et al.</i> , 1992 Bohlmann y Zdero, 1982
Tanetina		Williams <i>et al.</i> , 1995

TABLA 1. Principales constituyentes químicos de *Tanacetum parthenium* (Continuación)

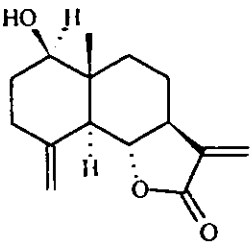
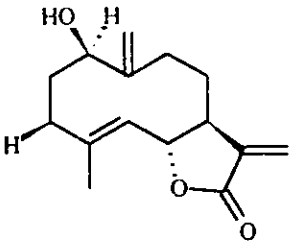
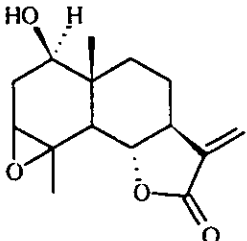
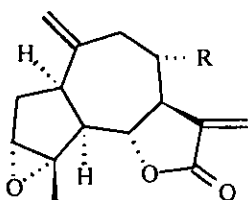
NOMBRE	ESTRUCTURA	REFERENCIA
Reynosina		Bohlmann y Zdero, 1982
Artemorina		Bohlmann y Zdero, 1982
Epoxisantamarina		Milbrodt <i>et al.</i> , 1997
R= OH 8 α -hidroxiestafiatin R= OiBu isobutiriloxiestafiatin R= OAng angeloiloxiestafiatin		Bohlmann y Zdero, 1982

TABLA 1. Principales constituyentes químicos de *Tanacetum parthenium* (Continuación)

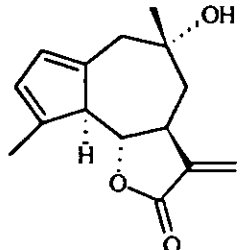
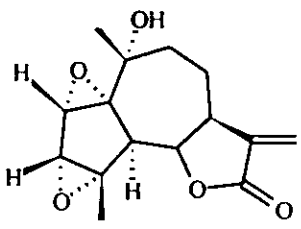
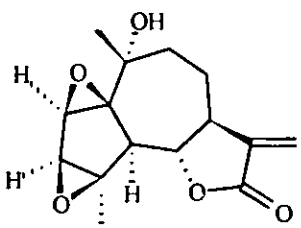
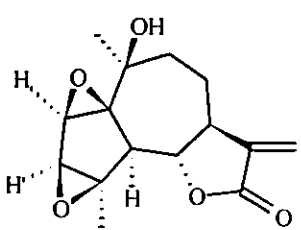
NOMBRE	ESTRUCTURA	REFERENCIA
Ciclopentadieno		Bohlmann y Zdero, 1982
Artecanina		Bohlmann y Zdero, 1982 Groenewegen <i>et al.</i> , 1986
Canina		Bohlmann y Zdero, 1982 Begley <i>et al.</i> , 1989 Groenewegen <i>et al.</i> , 1986
10-epi-canina		Bohlmann y Zdero, 1982

TABLA 1. Principales constituyentes químicos de *Tanacetum parthenium* (Continuación)

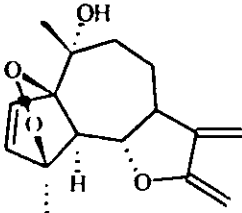
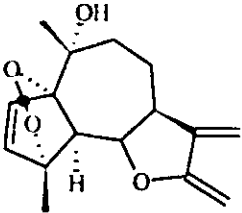
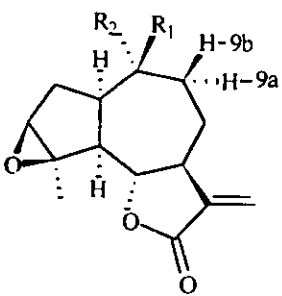
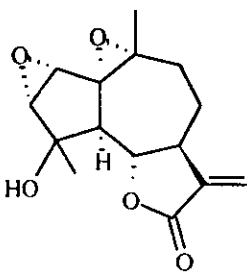
NOMBRE	ESTRUCTURA	REFERENCIA
Tanapartin- β -peróxido		Bohlmann y Zdero, 1982 Begley <i>et al.</i> , 1989
Tanapartin- α -peróxido		Bohlmann y Zdero, 1982 Begley <i>et al.</i> , 1989
$R_1 = \text{CH}_3$ $R_2 = \text{OH}$ (2) 3,4- β -Epoxi-8-deoxicumambrina B $R_1 = \text{CH}_3$ $R_2 = \text{OAc}$ (3) 3,4- β -Epoxi-10-acetoxi-8-deoxicumambrina B		Milbrodt <i>et al.</i> , 1997
Crisartemina B		Romo <i>et al.</i> , 1970

TABLA 1. Principales constituyentes químicos de *Tanacetum parthenium* (Continuación)

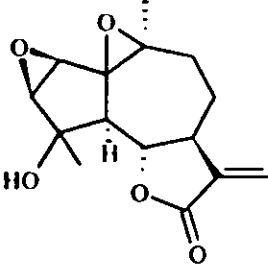
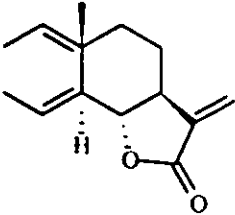
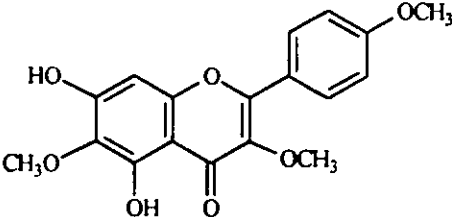
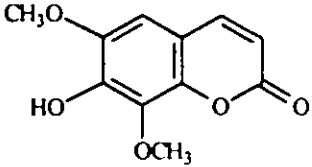
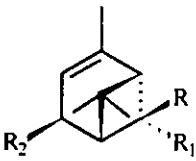
NOMBRE	ESTRUCTURA	REFERENCIA
Crisartemina A		Romo <i>et al.</i> , 1970
Lactona dehidrosassurea		Banthorpe y Brown, 1989
Santina		Rodríguez <i>et al.</i> , 1973
Isofraxidin		Kisiel y Stojakowska, 1997 Banthorpe y Brown, 1989
R= OAng, R ₁ =H, R ₂ = H Cis-crisantenil angelato R= OiVal, R ₁ =H, R ₂ = H Cis-crisantenil isovalato		Bohlmann y Zdero, 1982

TABLA 1. Principales constituyentes químicos de *Tanacetum parthenium* (Continuación)

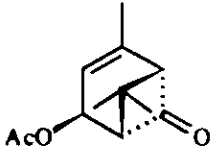
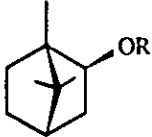
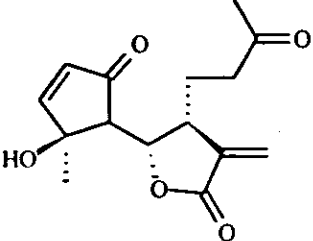
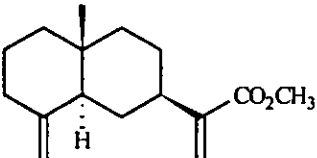
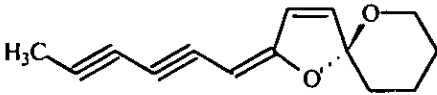
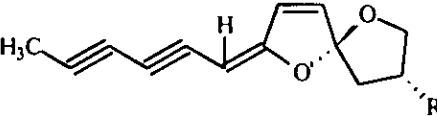
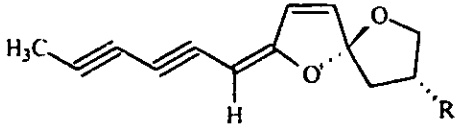
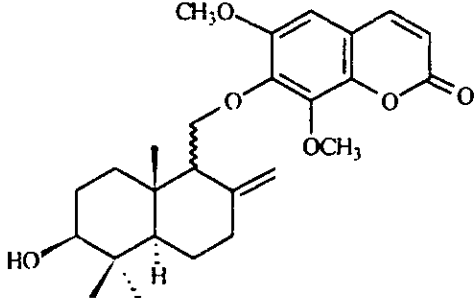
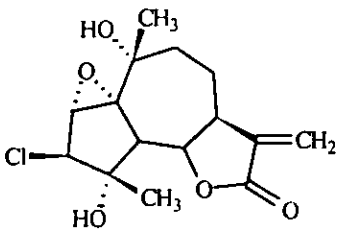
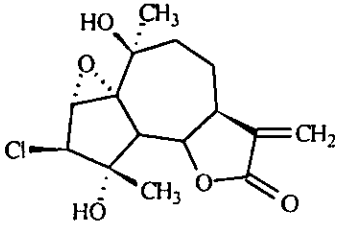
NOMBRE	ESTRUCTURA	REFERENCIA
4 β -acetoxicrisantenona		Bohlmann y Zdero, 1982
R=Ac, bornil acetato R= Ang, bornilangelato		Bohlmann y Zdero, 1982
α-OH, seco-tanapartenolida A β-OH, seco-tanapartenolida B		Bohlmann y Zdero, 1982 Begley <i>et al.</i> , 1989 Groenewegen <i>et al.</i> , 1986
Ester metílico del ácido cóstico		Bohlmann y Zdero, 1982
Cis= espirocetal enol éter Trans= espirocetal enol éter		Bohlmann y Zdero, 1982 Banthorpe y Brown, 1989
R= OiVal Trans-isovalerato		Bohlmann y Zdero, 1982

TABLA 1. Principales constituyentes químicos de *Tanacetum parthenium* (Continuación)

NOMBRE	ESTRUCTURA	REFERENCIA
R= OiVal Cis-isovalerato		Bohlmann y Zdero, 1982
9-epipectacol B		Kisiel y Stojakowska, 1997
Sustancia A		Wagner <i>et al.</i> , 1987
Sustancia B		Wagner <i>et al.</i> , 1987

2.3.3 ACTIVIDAD BIOLÓGICA

La Santa María presenta varias actividades entre las que destacan las siguientes:

A) Inhibición de la síntesis de prostaglandinas. El extracto clorofórmico macerado con una porción de la parte aérea de la planta y 10 partes de una solución amortiguadora de fosfatos 50 milimolar con un pH de 7.4, a la concentración de 50 $\mu\text{L}/\text{mL}$, inhibe la síntesis de prostaglandinas de un 86% a un 88%, pero no inhibe la ciclooxigenación. Si el extracto se hierva por 10 minutos, se pierde la actividad inhibitoria. El extracto clorofórmico preparado por maceración con las hojas de Santa María presenta el mismo efecto pero con mayor potencia para inhibir la síntesis de prostaglandinas (5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ inhiben la síntesis de prostaglandinas en un $58 \pm 5.5\%$), al igual que el extracto de la parte aérea no inhibe la ciclooxigenación del ácido araquidónico (Collier *et al.*, 1980). Esta propiedad puede estar relacionada con la actividad antipirética de esta planta, ya que la aspirina también inhibe a la síntesis de las prostaglandinas pero a diferencia de la Santa María, también inhibe a la ciclooxigenasa. Lo anterior indica que la inhibición de la síntesis de prostaglandinas por los extractos de la Santa María difieren del mecanismo de inhibición de los salicilatos.

B) Inhibición de la liberación de la serotonina. En la migraña se ha implicado la participación de la serotonina y se sabe que en los ataques de migraña los niveles de serotonina se encuentran elevados (Peroutka, 1997).

Los extractos clorofórmicos de Santa María inhiben la liberación de la serotonina de plaquetas, neutrofilos y leucocitos polimorfonucleares en ser humano, lo cual es relevante para el valor terapéutico de esta planta en la migraña y otras enfermedades (Groenewegen *et al.*, 1986), este bioensayo altamente reproducible es adecuado para el control de calidad como un antagonista de la serotonina que se utiliza en la terapia de la migraña y que actúa de esta manera (Peroutka, 1997).

C) Evaluación *in-vitro* del efecto en leucocitos polimorfonucleares (PMNL) de ser humano. La actividad del extracto clorofórmico de las hojas de *T. parthenium* ha sido evaluado

empleando el bioensayo de la inhibición de leucocitos polimorfonucleares en humanos (*in-vitro*), evaluándose así mismo por este bioensayo a la partenólida la cual es considerada como un compuesto importante para determinar la actividad biológica del extracto de la planta, pero no se considera el único componente farmacológicamente activo (Brown *et al.*, 1997).

El estudio del extracto de acetona de *T. parthenium*, consistió en determinar la actividad antiinflamatoria de esta planta, empleando leucocitos polimorfonucleares de ser humano (*in-vitro*). En ese estudio se determinó la actividad del extracto, así como de dos compuestos presentes en esta planta (germanólido y la partenólida). Este bioensayo representa una forma representativa para evaluar la actividad farmacológica de *T. parthenium* (Brown *et al.*, 1997).

Otro estudio parecido al anterior describe que la liberación de la serotonina en las plaquetas fue inhibida por el extracto de cloroformo / metanol de las hojas secas de *T. parthenium*. La agregación de plaquetas de ser humano fue considerablemente inhibida, pero la síntesis de tromboxano no se llevo a cabo. El extracto también inhibe la liberación de vitamina B₁₂ unida a proteínas de PMNs, inducida por varios agentes. Así mismo los autores concluyen que el efecto del extracto de cloroformo / metanol de Santa María en las plaquetas es diferente del obtenido con otros inhibidores de agregación plaquetaria y del efecto en PMNs en donde es más pronunciado y ha sido obtenido a concentraciones muy elevadas de agentes no esteroideos y anti-inflamatorios (Heptinstall *et al.*, 1985).

D) Bloqueo de la corriente de potasio dependiente del voltaje. El extracto clorofórmico de las hojas frescas de *T. parthenium* reduce la inactivación de la corriente de potasio dependiente del voltaje a concentraciones relacionadas con CI₅₀ de 56 µg/mL. Se tiene un bloqueo completo de la corriente si se incrementa la concentración a 1 mg/mL. Este efecto puede ser explicado por el extracto de *T. parthenium* que bloquea los canales abiertos de potasio. Solo en células aisladas de la arteria de la oreja de conejo, el extracto clorofórmico de *T. parthenium* reduce la corriente de potasio dependiente del voltaje, pero al mismo tiempo no tiene efecto en la corriente que surge como una consecuencia de la activación de los canales de potasio dependientes de calcio. Estos resultados sugieren que el extracto clorofórmico de las hojas de *T. parthenium* contienen una sustancia no conocida capaz de ser selectiva, en el

bloqueo de canales abiertos de voltaje dependiente de los canales de potasio (Barsby *et al.*, 1993).

E) El extracto clorofórmico de *Tanacetum parthenium* puede inhibir el comportamiento de las plaquetas por medio de la neutralización de grupos sulfidrilo. El extracto clorofórmico de las hojas de *T. parthenium* puede inhibir el comportamiento de las plaquetas de ser humano por su efecto sobre los grupos sulfidrilo. En este estudio se ha obtenido evidencia del modo de acción. i) Compuestos que contienen grupos sulfidrilo tal como cisteína y N-(2-mercaotopropionil) glicina impiden la inhibición del comportamiento de las plaquetas por *T. parthenium*. ii) El extracto clorofórmico de *T. parthenium* y la partenólida (uno de los compuestos activos de la planta), drásticamente reduce el número de grupos sulfidrilo solubles en ácido en plaquetas. Este efecto ocurre también a concentraciones similares a esas que inhiben la actividad secretoria de las plaquetas. iii) *T. parthenium* en si no reduce la formación de polímeros de proteína por puentes disulfuro en las plaquetas, pero la formación de polímeros ocurre cuando se adicionan agentes como el ácido araquidónico a plaquetas tratadas con *T. parthenium*. iv) *T. parthenium* provoca cambios en el metabolismo del ácido araquidónico en forma similar a aquellos observados en las plaquetas con glutatión disminuido (Heptinstall *et al.*, 1987).

F) Actividad de compuestos extraídos de *Tanacetum parthenium* en la liberación de histamina en células de rata. El extracto clorofórmico de las hojas secas de *T. parthenium* produce una inhibición dosis dependiente de la liberación de histamina de células estimuladas del peritoneo de rata con IgE o el ionóforo de calcio A23187. Esta inhibición de la liberación de la histamina es diferente a la inhibición provocada por cromoglicato y quercetina, por lo que se piensa que el extracto tiene un inhibidor novedoso (Hayes and Foreman, 1987).

G) Inhibición de 5-lipo-oxigenasa y ciclo-oxigenasa en leucocitos. El extracto clorofórmico de las hojas frescas de *T. parthenium* y de los productos comerciales de la hoja seca, produce la inhibición de la generación de tromboxano B₂ (TXB₂), leucotrieno B₄ (LTB₄) en leucocitos de

peritoneo de rata y leucocitos polimorfonucleares de seres humanos. Los valores de IC_{50} están en el rango de 5-50 $\mu\text{g/mL}$. la inhibición de TXB_2 y LTB_4 ocurre en paralelo. En si *T. parthenium* contiene una mezcla compleja de lactonas sesquiterpénicas que inhiben la síntesis de eicosanoides de alta potencia y que esta acción bioquímica puede ser relevante para afirmar la acción terapéutica de la planta (Summer *et al.*, 1992).

H) **Otras actividades.** A la Santa María se le han atribuido otras propiedades como repelente de insectos, insecticida, así como inhibidor de la fagocitosis, inhibición de la agregación plaquetaria, antitrombótica, tiene actividad antibacteriana *in vitro*, inhibe la liberación de histamina y tiene actividad citotóxica (Voyno-Yasenetskaya *et al.*, 1988).

En estudios farmacológicos del extracto clorofórmico de hojas frescas de *T. parthenium*, se midió la respuesta de contracción y relajación en preparaciones de anillos de aorta de conejo y rata, donde se determinó que la respuesta vascular en aorta de rata es irreversible (Barsby *et al.*, 1992; Barsby *et al.*, 1993).

Así mismo el extracto clorofórmico de *T. parthenium* también inhibe la contracción del músculo liso en preparaciones aisladas de anillos de aorta de conejo, en un tiempo determinado no específico y de manera irreversible (Hay *et al.*, 1994).

El extracto acuoso de *T. parthenium* a concentraciones elevadas (50-200 $\mu\text{g/mL}$) inhibe a los productos metabólicos de la ciclo-oxigenasa y de la lipo-oxigenasa en leucocitos de peritoneo de rata, ambos productos del metabolismo del ácido araquidónico (Capasso, 1986).

La partenólida aislada del extracto clorofórmico de las hojas secas de *T. parthenium*, inhibe la expresión de COX-2 y las citocinas proinflamatorias ($TNF\alpha$ y IL-1) en lipopolisacáridos (LPS) estimulados por macrófagos de rata. La función estructural α -metileno-gama-lactona le confiere el efecto inhibitorio (Hwang *et al.*, 1996).

Se aisló un compuesto del extracto clorofórmico de las hojas, flores y semillas de *T. parthenium* conocido como tanetina. Las pruebas farmacológicas indican que la tanetina podría contribuir a las propiedades anti-inflamatorias atribuidas a *T. parthenium*, por inhibición de la generación de eicosanoides pro-inflamatorios, empleando peritoneo de rata activado con leucocitos por el ionóforo de calcio 23183, a una concentración de 40 μM pero se considera que no es el único compuesto presente en la planta con esa actividad (Williams *et al.*, 1995).

2.3.4 ESTUDIOS CLÍNICOS.

Las hojas de Santa María se han sometido a estudios clínicos bien diseñados para evaluar su actividad en contra de la migraña. En uno de ellos se evaluó la eficacia de las hojas de esta planta como profiláctico de la migraña en un estudio doble ciego con un placebo en el que participaron 20 pacientes. Los 10 pacientes que recibieron el placebo tuvieron un incremento significativo en frecuencia y severidad de dolor de cabeza, náusea y vómito con la aparición de efectos severos indeseables, en los primeros meses del estudio. Los otros 10 pacientes que recibieron las hojas secas de Santa María no presentaron cambios en frecuencia y severidad de los síntomas de la migraña. Esto proporciona bases de que la planta tomada como profiláctico previene los ataques de este padecimiento (Johnson *et al.*, 1985).

Los resultados anteriores fueron confirmados por otro estudio realizado siguiendo un diseño aleatorio cruzado en el cual participaron 72 pacientes. Se registraron diariamente la frecuencia y severidad de los ataques de migraña en los pacientes participantes. De este estudio se concluyó que el tratamiento con la planta reduce la severidad, en el número de ataques de migraña y la intensidad del vómito, (empleada a una concentración de 70 a 114 mg por cápsula, donde se contiene de 2-19 μmol de partenólida por cápsula), sin embargo el tiempo de duración de los ataques no se alteró. También se concluyó que la planta no produjo efectos colaterales de importancia (Murphy *et al.*, 1988).

Se realizó un estudio parecido a los mencionados anteriormente en donde participaron 57 pacientes (47 mujeres y 10 hombres), los cuales se dividieron en dos grupos al azar. El estudio realizado fue un doble ciego placebo controlado. Los resultados demostraron que *T. parthenium* causa una reducción significativa en la intensidad del dolor, así como una disminución de los síntomas típicos usualmente relacionados con los ataques de migraña, (como son vómito, náuseas, sensibilidad a la luz y al ruido, etc.), en comparación con el tratamiento con el placebo (Palevitch *et al.*, 1997).

La Santa María también se ha investigado en el tratamiento de la artritis reumatoide. En un estudio con 41 pacientes del sexo femenino las cuales recibieron de 70 a 86 mg de planta o placebo en una dosis diaria durante 6 semanas, siguiendo un diseño experimental doble ciego. No

se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos en más de 15 parámetros analizados. Lo que llevó a concluir que la planta no proporciona beneficios en el tratamiento de la artritis reumatoide (Patrick *et al.*, 1989).

2.3.5 OTROS ASPECTOS.

Control de calidad

Tres métodos físicos son empleados para cuantificar la cantidad de partenólida y determinar la autenticidad de *T. parthenium* en varios productos comerciales de Santa María (HPLC, Espectroscopia RMN y HPLC con derivación). Así como también un método biológico con la finalidad de determinar la actividad de *T. parthenium*. El contenido de partenólida varía significativamente y en muchos productos no se encontró, por lo que se considero que se debe a la parte de la planta empleada (hoja, flor, tallo, semillas o raíz), ya que estudios anteriores describieron que el contenido de partenólida varía dependiendo de la parte de la planta. En este artículo se sugiere cuantificar la cantidad de partenólida, con la finalidad de determinar la estandarización de la planta y así realizar su control de calidad (Heptinstall *et al.*, 1992).

Productos Comerciales

En Canadá se comercializa un producto a base de *T. parthenium* aprobado por la Canada's Health Protection Branch para la prevención de la migraña. Esta autoridad sanitaria recomienda una dosis de 125 mg de hoja seca de *T. parthenium* debidamente certificada con un contenido mínimo de 0.2% de partenólida. En México se comercializan cápsulas con planta seca (parte aérea) de *T. parthenium*, es importante señalar que se trata de planta no cultivada en México.

2.4 TABLETAS

Las tabletas son preparados sólidos que se obtienen por compresión o moldeado y contienen el o los principios activos y los aditivos. Generalmente son de forma de disco, plano, ranurado y de tamaño variado y que cuando es necesario, puede ser cubierto por una película que no modifica la forma original. Existen una variedad amplia de tabletas tales como: Efervescentes, sublinguales, de acción y liberación prolongada, vaginales y masticables (FEUM, 2000).

2.4.1 METODOS PARA LA ELABORACIÓN DE TABLETAS.

Existen tres métodos principales para la fabricación de tabletas que a saber son: método de fabricación por compactación directa, por granulación seca y por granulación húmeda, depende de las propiedades y cantidad de principio activo que lleva la formulación (Banker and Anderson, 1988; King y Schwartz, 1995; Información técnica, 1982).

El método de compresión directa, como su nombre lo dice, consiste en la obtención de tabletas por compresión directa del material en polvo sin haber sido modificado en su naturaleza física. Antes, la compresión directa se reservaba para un pequeño grupo de productos químicos cristalinos que poseían todas las características físicas necesarias para la formación de tabletas. Este grupo comprende sustancias tales como sales de Potasio y Cloruro de Amonio. Estos materiales poseen propiedades cohesivas y de fluidez que posibilitan la compresión directa.

En formulaciones de compresión directa, el excipiente es el responsable de conferir características aceptables de flujo y compresibilidad, además algunas veces éstos actúan como desintegrantes. Para tabletas en donde el principio activo constituye el mayor porcentaje del peso total de la tableta, es necesario que el activo posea las características físicas requeridas para la formulación por compresión directa (fluidez y compresibilidad). A pesar de sus limitaciones relativas con los fármacos ya sea a nivel de dosificación altas o niveles de dosificación extremadamente baja, la compresión directa es un buen proceso de selección cuando en una formulación la concentración del principio activo está entre el 10 % y el 30 %.

El uso de este proceso, fuera del rango mencionado, va a depender del flujo y la compresibilidad del principio activo. Pero con una buena elección de los excipientes, es posible superar las limitaciones de compresibilidad y poca fluidez intrínseca del principio activo, pues hoy en día con las nuevas tecnologías e innovaciones de los diluyentes para compresión directa se ha venido a resolver este problema.

Otros parámetros que se deben considerar, son la distribución del tamaño de partícula de algunos excipientes, que pueden hacer que el fármaco se distribuya con mayor o menor homogeneidad a ciertos fármacos en el mezclador. La compresibilidad cualitativa de algunos diluyentes disminuyen rápidamente conforme la concentración del ingrediente activo aumenta, reduciendo su potencial de carga y la humedad relativamente alta que tienen algunos excipientes que pueden afectar la estabilidad del fármaco.

Actualmente la compresión directa se define como el proceso por el cual las tabletas se comprimen a partir de una mezcla de polvos, de principio activo y excipientes (diluyentes, desintegrantes y lubricantes), esta mezcla debe fluir uniformemente dentro de la matriz y formar con ello un compactado firme. En este método no se lleva a cabo la humectación, consecuentemente tampoco el secado de los polvos.

La simplicidad del proceso de compresión directa es obvia. Sin embargo, la aparente simplicidad puede causar fracasos iniciales, en los cambios de formulaciones de granulación húmeda a compresión directa. Se requiere de una nueva aproximación crítica a la selección de los materiales (excipientes), observando principalmente las propiedades de flujo de los polvos mezclados y los efectos de las variables de la formulación sobre la compresibilidad (Banker and Anderson, 1988; King y Schwartz, 1995; Información técnica, 1982).

Algunas de las ventajas son:

- Ahorro en tiempo, número de análisis, equipo, etc.
- Involucra sólo las pruebas de pesado, mezclado y comprimido.
- Existe mayor estabilidad física y química.
- Es de menor costo.

Algunas de las desventajas:

- Las diferencias en tamaño de partícula y densidad, entre el principio activo y el diluyente pueden causar una uniformidad de contenido pobre, principalmente en dosis bajas debido a un mal mezclado.
- En dosis grandes del principio activo se pueden presentar problemas en la compresión si el fármaco no es fácilmente comprimible por sí solo.
- Existe la formación de cargas electrostáticas en los polvos por comprimir, formadas durante el proceso de tamizado y mezclado.
- Menor velocidad de tableteado

Método de granulación por vía seca, es una técnica eficiente en situaciones donde la dosis efectiva de un fármaco es alta para la compresión directa y el fármaco es sensible al calor, humedad o ambas, las cuales impiden llevar a cabo la granulación por vía húmeda. Se requieren dos etapas de compactación para obtener la tableta, precompresión y compresión final. El polvo mezclado es comprimido a alta presión para dar una masa de comprimidos de mayor densidad. Estos son reducidos para producir un granulado seco disponible para una compresión final (Banker and Anderson, 1988; King y Schwartz, 1995; Información técnica, 1982).

Método de granulación por vía húmeda, es un método convencional para convertir los polvos en granulados con propiedades adecuadas de flujo y cohesividad para ser comprimidos. Los granulados húmedos se obtienen al unir los polvos por medio de un aglutinante en vez de una compactación. La técnica emplea una solución, suspensión, pasta o jarabe que contiene un agente aglutinante, el cual es adicionado a la mezcla de polvos, sin embargo dicho aglutinante puede ser agregado en seco y el líquido se vierte solo, para formar una gran masa húmeda la cual es secada y procesada en forma de un granulado (Banker and Anderson, 1988; King y Schwartz, 1995; Información técnica, 1982).

2.4.2 EXCIPIENTES EMPLEADOS EN LA ELABORACIÓN DE TABLETAS

Diluyentes.

Son productos inertes cuya finalidad es dar volumen a la tableta cuando el principio activo, por sí solo, no es suficiente para producirlo. En algunas ocasiones la dosis del principio activo es tan alta que no se requiere el uso de diluyentes. Como ejemplos tenemos al: fosfato de calcio, sulfato de calcio, carbonato de calcio, lactosa, celulosa, almidón seco entre otros (Banker and Anderson, 1988; King y Schwartz, 1995; Información técnica, 1982).

Para la selección de un diluyente se deben considerar los siguientes criterios:

1. Debe ser físicamente inerte.
2. Debe ser físicamente y químicamente estable con sí mismo, en combinación con los principios activos y los demás excipientes de la tableta.
3. No debe ser tóxico.
4. Debe ser disponible comercialmente en el país donde el producto sea manufacturado.
5. Debe tener un costo aceptable.
6. No debe presentar contraindicaciones para algún segmento de la población.
7. No debe interferir en la biodisponibilidad del principio activo.

Aglutinantes.

Son sustancias empleadas en el proceso de manufactura de tabletas por compresión húmeda o seca para ligar los polvos activos y ciertos excipientes formando los gránulos, impartiendo cohesión al material en el polvo que se desea comprimir. En una granulación húmeda son adicionados en solución para la formación de una masa húmeda que posteriormente da origen al granulado húmedo. En el proceso de compresión seca se adicionan en seco para promover la formación de comprimidos cohesivos. Entre los materiales usados más comúnmente se encuentran: almidón, gelatina y azúcares tales como sucrosa, glucosa, dextrosa y lactosa, etc (Banker and Anderson, 1988; King y Schwartz, 1995; Información técnica, 1982).

Desintegrantes.

Son productos que se adicionan en algunas formulaciones de tabletas para facilitar el rompimiento o desintegración del comprimido cuando entra en contacto con el líquido del tracto gastrointestinal. Los desintegrantes tienen la función de atrapar el agua dentro de la tableta, hinchándose y provocando el rompimiento de la misma. Dicha fragmentación puede ser crítica para la subsecuente disolución del principio activo y para una biodisponibilidad satisfactoria. Los materiales que sirven como desintegrantes se han clasificado químicamente como almidones, arcillas, celulósas, alginatos, gomas y polímeros-combinados. Como ejemplos se encuentran el almidón de maíz, almidón de papa, metilcelulosa, glicolato sódico de almidón, etc (Banker and Anderson, 1988; King y Schwartz, 1995; Información técnica, 1982).

Lubricantes, antiadherentes y deslizantes.

Son compuestos que se adicionan a la mezcla de polvos o de granulados, para reducir la fricción entre la tableta y las paredes de la matriz durante la compresión facilitando la expulsión de la tableta. El mecanismo de los lubricantes, resulta de reducir la adherencia de la porción polar de moléculas con largas cadenas de carbono, a la superficie metálica de las paredes de la matriz. Como ejemplos de lubricantes tenemos al talco, estearato de magnesio, estearato de calcio, ácido esteárico, aceites vegetales, polietilén glicol, etc (Banker and Anderson, 1988; King y Schwartz, 1995; Información técnica, 1982).

Antiadherentes

Son productos empleados para prevenir que se pegue algún componente de la mezcla del producto a las caras de los punzones o de la pared de la matriz.

Deslizantes.

El mecanismo de acción de los deslizantes se ha estudiado por varios investigadores, quienes proponen que los deslizantes participan de la siguiente forma:

Tienen la función de mejorar la fluidez del polvo o granulado dando un efecto de rodamiento al reducir la fricción entre partículas. Como ejemplos tenemos al dióxido de silicio coloidal y al talco, entre otros.

1. La dispersión de las cargas electrostáticas sobre la superficie de la granulación.
2. La distribución del deslizante en la granulación.
3. La minimización de fuerzas de Vander Waals por separación de los gránulos.
4. La reducción de la fricción entre partículas y superficies rugosas por la adherencia del deslizante a la superficie de la granulación (Banker and Anderson, 1988; King y Schwartz, 1995; Información técnica, 1982).

2.4.3 PARAMETROS REOLOGICOS.

Más que cualquier otro proceso, las formulaciones por compresión directa dependen en mayor grado de las propiedades de los excipientes y de la optimización de la compresibilidad, fluidez y lubricación de la mezcla de polvos. No debe pasarse por alto la importancia de la estandarización de las propiedades funcionales de los materiales y los parámetros de mezclado.

Durante la caracterización de polvos y granulados se utilizan parámetros de tipo reológicos tales como densidad aparente, densidad compactada, velocidad de flujo, ángulo de reposo, distribución de tamaño de partícula, % de compresibilidad (Índice de Carr) e Índice de Hausner, los cuales permiten evaluar físicamente las características macroscópicas, tanto del principio activo como de los excipientes.

Dichos resultados permiten predecir el comportamiento del principio activo y excipientes durante el proceso de manufactura y son de gran utilidad para elegir la formulación más adecuada, ya que estos factores pueden afectar las propiedades finales de los comprimidos como la velocidad de disolución, friabilidad, desintegración y variación de peso (Banker and Anderson, 1988; King y Schwartz, 1995; Información técnica, 1982; O'Connor *et al.*, 1995).

2.4.4 COMPATIBILIDAD DE COMPONENTES

Los estudios de interacción entre el principio activo y los excipientes se realizan con el fin de determinar una lista de excipientes que pueden utilizarse de manera sistemática en la forma farmacéutica final.

El uso de técnicas cualitativas para este tipo de estudios es frecuentemente satisfactorio, si se ve desde el punto de vista objetivo para detectar los cambios del principio activo en la presencia del excipiente.

Las técnicas más frecuentemente empleadas son: técnica de reflectancia difusa, espectrofotometría, cromatografía en capa fina y técnica termal, como ejemplos de esta última tenemos a la calorimetría de barrido diferencial y al análisis térmico diferencial, los cuales son ampliamente empleados en estudios de interacción entre principios activos y excipientes en estado sólido.

La elección de los excipientes es otra área para la investigación de preformulaciones. El tipo y nivel de impurezas en ciertas sustancias farmacéuticas “inertes” y sus características físico-químicas es importante para la elección óptima de los excipientes en la formulación final (Radenbaugh y Ravin, 1995; Vadas, 1995; Shami *et al.*, 1988; Información técnica, 1982; Venkataram *et al.*, 1995; Angberg *et al.*, 1990).

3. JUSTIFICACIÓN

El *Tanacetum parthenium* se utiliza para el tratamiento de la migraña, existen varias formulaciones en forma de tabletas y cápsulas que incluyen como principio activo a las hojas de esta planta a una dosis terapéutica de 125 mg. En México crece esta planta, sin embargo no se utiliza como materia prima para la elaboración de este tipo de medicamentos a pesar de que se utiliza en la medicina tradicional mexicana para ese mismo fin. Las hojas de *T. Parthenium* que crecen en México no contienen partenólida, metabolito al que se le atribuye la actividad biológica, sin embargo no existe información de que carezca de actividad biológica. Estas dos características motivaron a que se realizara en primer lugar el estudio de su actividad biológica, así como el control de calidad como materia prima, para elaborar medicamentos herbolarios y con ello proponer una formulación para elaborar tabletas por compresión directa de las hojas de *T. Parthenium* cultivada en México.

Sabemos que en la actualidad no todas las plantas medicinales cuentan con un control de calidad, por lo que en el presente trabajo se propone una monografía que incluye los controles de calidad con los que deben cumplir las hojas de *T. parthenium* cultivada en México para garantizar su calidad.

El presente trabajo se realizó en colaboración con la compañía **Helm de México S. A.** La cual propuso una formulación, a la que se le realizaron modificaciones con base a la compatibilidad de los excipientes con la planta y a la dosis de las hojas de *T. parthenium*, llegándose a la formulación final descrita en este trabajo.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Comprobar la actividad biológica y la presencia de partenólida en el extracto de *Tanacetum parthenium*. Elaborar una monografía para el control de calidad de la hoja de Santa María (*Tanacetum parthenium*), así como proponer una formulación de tabletas obtenidas por compresión directa empleando hojas de *Tanacetum parthenium* de origen nacional.

4.2 OBJETIVOS PARTICULARES

1. Comprobar la actividad biológica del extracto de *Tanacetum parthenium*, como relajante vascular.
2. Determinar la presencia de partenólida en la hoja de *Tanacetum parthenium* cultivada en México, por un análisis de CG-EM.
3. Realizar los siguientes controles, para las hojas de *Tanacetum parthenium* cultivadas en México, empleadas como materia prima vegetal, de acuerdo a los lineamientos propuestos por la OMS 1988, para plantas medicinales. Identificación del material vegetal, elementos extraños, contenido de cenizas, fibra cruda, material extraíble, pérdida al secado, índice de hinchamiento, límite microbiano, ausencia de microorganismos patógenos y metales pesados.
4. Proponer una formulación por compresión directa para elaborar tabletas de las hojas de Santa María (*Tanacetum parthenium*), empleando materia prima vegetal mexicana y llevando a cabo el control de calidad del producto.

5. METODOLOGÍA

En el diagrama 1 se describe la metodología general que se llevó a cabo.

5.1 BIOENSAYO PRELIMINAR DE LA RELAJACIÓN DEL MUSCULO LISO DE AORTA DE RATA.

El extracto clorofórmico se preparó de la siguiente manera: Se pesaron 50 g de hojas secas y se maceraron por 7 días, posteriormente se filtró y se concentró a sequedad. De este extracto se tomaron las cantidades necesarias para proponer las suspensiones de extracto en agua destilada con trazas de tween 80.

Para el estudio se utilizaron ratas wistar de 200-250 g, los animales se sacrificaron por desnucamiento, se extirpo la aorta del segmento torácico y se colocó el tejido en una caja Petri con solución de Krebs cuya composición fue la siguiente para preparar un litro: NaCl 6.9 g, Glucosa 2.1 g, Bicarbonato de sodio 2.1 g, Cloruro de potasio 0.35 g, MgSO₄ 0.35 g, KH₂P 0.16 g, Cloruro de calcio 0.37 g, EDTA 0.01 g, posteriormente se cortan anillos de 2 mm.

En cámaras verticales para tejidos aislados se incubaron los anillos cortados, en solución de Krebs, manteniendo las preparaciones a una temperatura de 37 °C con burbujeo continuo de 95 % O₂ y 5 % CO₂. En estas condiciones, un extremo del tejido se sujetó al fondo de la cámara y el otro extremo se ato al transductor de desplazamiento de fuerza FT03 que está acoplado a un polígrafo Grass-7D, previamente calibrado a una sensibilidad de 2 mV/cm, la tensión inicial empleada en el tejido fue de 1 g.

Los tejidos se estabilizaron en la solución de Krebs durante 30 minutos, cambiando la solución de Krebs cada 10 minutos. Pasando este periodo se adiciono a la cámara fenilefrina (10⁻⁶M) con la finalidad de producir la contracción del tejido. Una vez producida la contracción se adicionó Acetilcolina a las siguientes concentraciones 10⁻², 10^{-2.5}, 10⁻³, 10^{-3.5}, 10⁻⁴, 10^{-4.5}, 10⁻⁵, 10^{-5.5}, 10⁻⁶, 10^{-6.5}, 10⁻⁷ (M), con la finalidad de valorar la respuesta. Se lavó y se dejó reposar por 15 minutos, para que se estabilice el tejido. Se añadió nuevamente fenilefrina (10⁻⁶M) y se adicionó a la cámara el material de prueba (disuelto en Agua con trazas de Tween-80), preparado de la siguiente manera: se pesaron 10 mg del extracto de cloroformo, al cual se le adicionó una

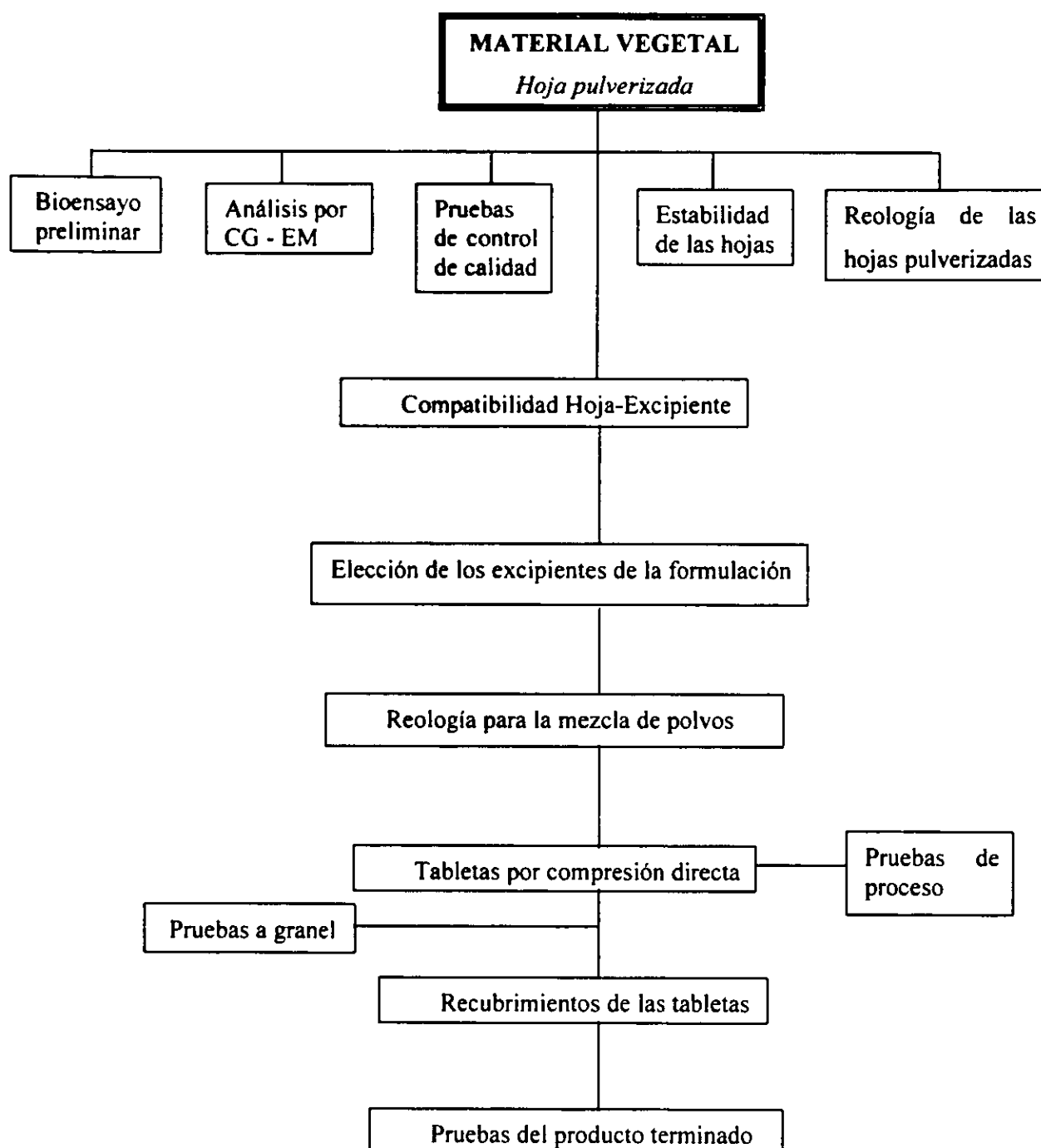


Diagrama 1. Metodología general para el control de calidad y elaboración de las tabletas con las hojas de *Tanacetum parthenium*.

gota de tween-80 y un mililitro de agua destilada, de aquí se tomaron 0.1 mL y se adicionaron a las cámaras, para obtener una concentración de 100 µg/mL. Lo mismo se realizó para los 30 mg del extracto de cloroformo y obtener una concentración de 300 µg/mL. En el mismo experimento se corrió un control con el vehículo (Agua con trazas de Tween-80). Se realizaron seis repeticiones del experimento.

5.2 ANÁLISIS POR CG - EM

1) Cromatografía de Gases acoplado a espectrofotometría de masas.

Se realizó la separación de componentes del extracto clorofórmico, empleando la técnica de cromatografía de gases acoplado a masas, tanto la separación de los compuestos del extracto, como el análisis de la partenólida se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases HP acoplado a un espectrómetro de masas modelo Jeol JMS-SX102A, mediante la inyección de 0.1 µL de cada una de las muestras de prueba en una columna capilar HP-5 part number 19091J-413 Ph Me Silicone. Se utilizó helio como gas acarreador, a una presión manométrica de 0.6 Kg/cm² y con un flujo de 2 mL/min. La temperatura del inyector se mantuvo a 300 °C, la temperatura de la columna inicial fue de 50 °C y se programó para alcanzar una temperatura de 300 °C con un calentamiento gradual de 20 °C/min (Técnica empleada en los Lab. USAI, Fac. de Química, UNAM).

5.3 PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD DEL MATERIAL VEGETAL

Los procedimientos descritos a continuación son los recomendados por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 1988) y la Real Farmacopea Española para el control de calidad del material vegetal. Algunos de ellos, ya se encuentran descritos en la edición vigente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM, 2000). Así como también se consideraron los límites establecidos en la USP 24 para *Tanacetum parthenium*.

La adquisición del material vegetal se realizó en el Mercado de Sonora (México D. F.). Esta muestra fue recolectada en el mes de Agosto de 1998, proveniente del estado de Puebla. El material vegetal fue identificado taxonómicamente por un botánico y el ejemplar de herbario esta

depositado en el Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSSM), con el número 13622.

5.3.1 IDENTIFICACIÓN CROMATOGRÁFICA DEL MATERIAL VEGETAL.

La identificación del material vegetal se llevó a cabo mediante un análisis cromatográfico cualitativo en capa fina, para la cual se emplearon placas de vidrio recubiertas de gel de sílice con un espesor de 0.25 mm (Sílica gel F₂₅₄Merk), utilizando un extracto estandarizado y una referencia autentica.

La muestra se preparó de la siguiente manera: 5 g de la hoja pulverizada, se extrajeron por maceración con una mezcla de CH₂Cl₂:Metanol (1:1) por 24 horas a temperatura ambiente (22 °C). Al término de la extracción la solución resultante se filtró y se concentró a presión reducida. El extracto resultante se reconstituyó con 15 mL de la mezcla CH₂Cl₂:Metanol (1:1). La aplicación de la muestra (20 µL) se realizó con una micropipeta en forma de gota. Se corrió junto con un extracto estandarizado de la hoja de *T. parthenium* y una referencia autentica de partenólida (1 mg en 1 mL de metanol).

El proceso de elución se llevó a cabo con el sistema CH₂Cl₂:Acetona en proporción 85:15 y como agente cromógeno se utilizó vainillina-H₂SO₄ (Sol. 1, 5% ácido sulfúrico en etanol, Sol. 2, 1% vainillina en etanol). Se visualizó la placa con luz UV (onda corta 254 nm y onda larga 365 nm); posteriormente se reveló con el cromógeno antes descrito (rociar la placa con 10 mL de la solución 1, e inmediatamente después con 10 mL de la solución 2), para el desarrollo de color fue necesario calentar por cinco minutos a 100 °C aproximadamente.

5.3.2 ELEMENTOS EXTRAÑOS

Se pesaron 100 g de hojas frescas y se extendieron sobre una superficie apropiada formando una capa delgada. Los elementos extraños se detectaron con ayuda de una lupa (X 6). Se separaron los elementos extraños, cabe destacar que el tallo y las flores del arbusto se consideraron elementos extraños, se pesaron y se calculó el porcentaje que representan. Se

realizaron 6 repeticiones y los resultados se expresaron con respecto a 100 g de planta fresca (Real Farmacopea Española, 1997).

5.3.3 FRAGMENTACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

La hoja fresca libre de elementos extraños, se seco a temperatura ambiente en una superficie plana y posteriormente se procedió a fragmentarla en un molino Thomas-Willey Modelo 4 a tamaño de polvo fino (malla 200).

5.3.4 CONTENIDO DE CENIZAS

A) Cenizas totales

En un crisol previamente puesto a peso constante, se pesó 1 g de la hoja pulverizada. La muestra se precalcino con un mechero cuidando de no perder material en ningún momento. Posteriormente se incineró a $600\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta que el registro del peso fue constante. Finalmente se dejó enfriar en un desecador, se pesó y se calculó el por ciento de cenizas totales. Se trabajaron 5 repeticiones independientes y los resultados se expresan con respecto a 1 gramo de planta seca (FEUM, 2000; OMS, 1988).

B) Cenizas insolubles en ácido

En un crisol previamente puesto a peso constante, se añadió el residuo obtenido en la determinación de cenizas totales y se agregaron 15 mL de agua y 10 mL de ácido clorhídrico concentrado. La mezcla antes se cubrió con un vidrio de reloj y se calentó hasta ebullición suavemente durante 10 minutos, al termino de este tiempo la mezcla resultante se dejó enfriar y se filtró el residuo obtenido a través de un papel filtro libre de cenizas, posteriormente se lavó con agua caliente hasta que el filtrado fue neutro, el residuo obtenido se colocó en un crisol previamente puesto a peso constante, se dejó secar y se calcinó al rojo oscuro, posteriormente se dejó enfriar en el desecador y se peso. Se repitió la calcinación hasta que la diferencia entre dos pesadas sucesivas no fue superior a 1 mg. Se realizaron 5 repeticiones y los resultados se expresaron con respecto a 1 gramo de planta seca (FEUM, 2000; OMS, 1988; Real Farmacopea Española, 1997).

5.3.5 DETERMINACION DE FIBRA CRUDA.

Para determinar la cantidad de fibra cruda presente en el material vegetal, se pesaron 2 g del material vegetal, y se extrajeron mediante un proceso de reflujo con 50 mL de éter etílico durante 30 minutos. Al término de la extracción se eliminó por decantación el éter etílico y se adiciono al residuo obtenido 200 mL de una solución 1:78 de ácido sulfúrico en ebullición. La mezcla resultante se sometió a un proceso de reflujo durante 30 minutos con agitación suave. Al término de la extracción, la solución resultante se filtro a través de un lienzo de lino y se lavo con agua caliente hasta que el filtrado fue neutro. El residuo sólido así obtenido nuevamente se sometió a un proceso de reflujo con una solución de hidróxido de sodio al 1.25% (libre de carbonato de calcio). La mezcla resultante se filtro a través de papel filtro libre de cenizas y el residuo se lavo con agua caliente hasta que el filtrado fue neutro. Posteriormente, el residuo se seco a 110 °C durante 3 horas. Este procedimiento se repitió hasta que el peso fue constante.

Finalmente, el residuo junto con el papel filtro se calcino en una mufla a 600 °C ± 25 °C, durante 3 horas. La calcinación de la muestra se repitió hasta que el peso fue constante. Se realizaron 5 repeticiones y los resultados se expresaron con respecto a 1 gramo de planta seca. El porcentaje de fibra cruda se calculo empleando la siguiente fórmula: $100 (P \times C) / M$

Donde P representa el peso del residuo seco obtenido a 100 °C; C es el peso obtenido después de su calcinación a 600 °C y M es el peso de la muestra (FEUM, 2000).

5.3.6 DETERMINACION DE MATERIAL EXTRAIBLE.

Este método determina la cantidad de constituyentes extraíbles con diferentes disolventes y se especifica como sustancias extraíbles en alcohol, en alcohol diluido y en hexano.

Se prepararon tres extractos diferentes con hexano, etanol y etanol-agua (70:30) de acuerdo al siguiente procedimiento: en un matraz cónico apropiado, se introdujo 4.0 g de la hoja pulverizada y 100 mL de disolvente. Se agitó constantemente durante las primeras 6 horas y se dejó en reposo hasta que transcurrieron 24 horas. Se filtró rápidamente, sin perder el disolvente y se transfirieron 25 mL del filtrado a un matraz previamente tarado, posteriormente se evaporó a sequedad en un

baño de agua. Se secó el residuo a 105 °C durante seis horas, se dejó enfriar en un desecador durante 30 minutos y se pesó. Se calculó el contenido de material extraíble en mg por g de planta seca. Se trabajaron 5 réplicas por tratamiento y los resultados se expresaron con respecto a 1 gramo de planta seca (OMS, 1988).

5.3.7 DETERMINACIÓN DE PERDIDA AL SECADO.

Se colocó sobre la charola de aluminio de la Termobalanza (Termobalanza Ohaus modelo 6010) 3 g de la hoja pulverizada. Se accionó la termobalanza durante 15 minutos a 80 °C y se registró la lectura del porcentaje de humedad perdida. Se realizaron 6 repeticiones y los resultados se expresaron con respecto a 3 gramos de planta seca (OMS, 1988).

5.3.8 DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE HINCHAMIENTO.

Prueba preliminar. Se pesó 0.5 mg de la hoja pulverizada, se le adicionó 1 mL de ácido sulfúrico diluido y 1 mL de una solución saturada de carbonato de calcio. Como se presentó efervescencia que indicó una prueba positiva, se realizó lo siguiente: en una probeta graduada de 25 mL con tapón esmerilado, se introdujo un gramo de la hoja pulverizada y se humedeció con 1 mL de alcohol y se añadió 25 mL de agua. Se tapó la probeta y agitó enérgicamente cada 10 minutos durante un periodo de una hora. Se dejó en reposo durante 3 horas y se eliminó por decantación la mayor parte posible del líquido retenido al nivel de la droga y las partículas de la misma que flotan en la superficie del líquido. Se midió el volumen ocupado por la droga, incluyendo el mucílago que pudo estar adherido a la misma. Se efectuaron 3 ensayos simultáneos. Se realizaron 6 repeticiones y los resultados se expresaron con respecto a 1 gramo de planta seca (Real Farmacopea Española, 1997).

5.3.9 DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS.

La metodología a seguir fue la misma que para la determinación de cenizas insolubles en

ácido. Una vez obtenidas las cenizas insolubles en ácido, se determinaron los niveles de metales pesados plomo, cadmio y mercurio en la hoja pulverizada por la técnica de absorción atómica, la cual consistió en: adicionar 10 mL de ácido clorhídrico concentrado a la muestra de cenizas insolubles en ácido y mantenerla por 60 minutos en baño de agua a ebullición. Al terminó de esté tiempo se filtró y aforó a 50 mL. Se colocó la muestra en el equipo y se registró la lectura de los resultados de plomo, cadmio y mercurio obtenidos, en el espectro Aanalyst 100 Perkin-Elmer, a una longitud de onda de 283.3 nm.

El estándar se preparó a partir de una solución Stock de plomo, cadmio y mercurio para absorción atómica. La flama fue una mezcla de Oxígeno-Acetileno.

5.3.10 DETERMINACIÓN DEL LÍMITE MICROBIANO Y AUSENCIA DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS

5.3.10.1 Límites microbianos.

5.3.10.1.1 Recuento de organismos mesófilos aerobios

Preparación de la muestra.

Las muestras a evaluar se prepararon de la siguiente forma: 10 g de la hoja pulverizada se suspendieron en 90 mL de una disolución de peptona-cloruro de sodio (pH 7.0) previamente esterilizada (Apéndice I). A partir de la suspensión anterior, se prepararon 8 diluciones seriadas, en donde 1 mL de la disolución contenía aproximadamente entre 30 y 300 UFC (Unidades Formadoras de Colonias).

Como controles positivos se emplearon en todos los ensayos las cepas de referencia indicadas en el siguiente cuadro. El mismo procedimiento se siguió para los controles negativos que contenían únicamente la disolución amortiguadora de peptona-cloruro de sodio. Se trabajaron cinco réplicas independientes por muestra.

Microorganismos de referencia empleados para los diferentes ensayos.

Microorganismo	Número de cepa	Medio de cultivo
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538p	Agar soya-caseína
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 25619	Agar soya caseína
<i>Salmonella typhi</i>	ATCC 6539	Caldo lactosa
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 10536	Caldo lactosa

1. Recuento de bacterias (Método en placa).

Los ensayos se realizaron en cajas de Petri de 10 cm de diámetro interno. Para cada muestra de prueba se prepararon 8 diluciones seriadas, de forma tal de obtener concentraciones finales de 100, 10, 1, 0.1 mg/mL, 10, 1, 0.1, µg/mL y 100 ng/mL. A continuación, se transfirieron a las cajas de Petri 1 mL de las diluciones de prueba conteniendo las concentraciones antes indicadas y 15 mL del medio agar soya tripticaseína previamente esterilizado (Apéndice I) y mantenido en un baño de agua a una temperatura aproximada de 45 °C–48 °C. Con movimientos rotatorios suaves, se mezcló la alícuota de la muestra con el medio de cultivo. Posteriormente, se dejó solidificar el medio a temperatura ambiente. Las placas se incubaron en posición invertida a 35 °C durante 48 horas. Al finalizar el tiempo de incubación, se procedió a contar con ayuda de una lupa el número de UFC. Se realizaron 5 réplicas y los resultados se expresaron con respecto a un gramo de planta seca (OMS, 1988; FEUM, 2000).

El mismo procedimiento se siguió para el control negativo que contenía únicamente solución amortiguadora. Como control positivo se empleó una cepa de *Escherichia coli*. Se trabajaron cinco réplicas independientes por muestra.

2. Método en tubo (Número más probable, NMP)

1 mL de las diluciones 10^{-1} - 10^{-8} se transfirieron a 8 tubos de ensayo conteniendo exactamente 9 mL de medio caldo soya tripticaseína, previamente esterilizado. Los tubos se incubaron a 35 °C durante 48 horas. Transcurrido este tiempo se procedió a contar el número de tubos que presentan turbidez debido al crecimiento microbiano (FEUM, 2000).

Los resultados se expresaron como el número más probable (NMP) de microorganismos por gramo de planta seca utilizando la tabla 2 (Collins y Lyne, 1989), se realizaron 5 réplicas.

5.3.10.1.2 Recuento de hongos filamentosos y levaduras (Método en placa).

El recuento de hongos filamentosos y levaduras se realizó de acuerdo a la metodología descrita en la sección 5.3.10.1.1 (Recuento de bacterias). Para este ensayo se empleó como medio de cultivo Agar Sabouraud-Dextrosa con cloramfenicol. Las placas se incubaron en posición invertida a 25 °C por un período de 5 días.

Los resultados se expresaron como el número de UFC por gramo de planta seca. Se realizaron 5 réplicas (OMS, 1988; FEUM, 2000).

El mismo procedimiento se siguió para el control negativo que contiene únicamente solución amortiguadora. Como control positivo se empleó una cepa de *Candida albicans*. Se trabajaron cinco replicas independientes por muestra.

5.3.10.2 Identificación de microorganismos patógenos

5.3.10.2.1 Identificación de *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella sp*, *Escherichia coli*.

Pseudomonas aeruginosa

10 g de la hoja se suspendieron en 90 mL de la disolución amortiguadora de peptona-cloruro de sodio pH 7.0 (Apéndice I). La suspensión anterior se agitó para homogenizar y se incubó a 37 °C durante 48 horas. Posteriormente, se prepararon aislamientos sobre placas con el medio sólido agar cetrimida (Apéndice I) y se incubaron a 37 °C por 48 horas. Posteriormente la placa de agar cetrimida se comparó contra un control positivo de *P. aeruginosa*, así como también con la bibliografía correspondiente (Koneman *et al.*, 1992; Finegold y Barón 1989; MacFadin, 1991).

PRUEBA DE LA OXIDASA: una tira de papel filtro se impregnó con una disolución al 1 % de diclorohidrato de N,N,N',N'tetrametil p-fenilendiamina y se colocó sobre ella una pequeña porción de la colonia sospechosa. La ausencia de una coloración púrpura en 10 segundos fue indicativa de una prueba negativa para *P. aeruginosa*. Como control positivo se empleó una cepa de *P. aeruginosa*.

Salmonella sp.

Preparación de la muestra: 10 g de la hoja pulverizada se suspendieron en 90 mL de caldo soya tripticaseína. La suspensión anterior se agitó para homogeneizar y se incubó a 35 °C durante 12 horas (OMS, 1988).

Ensayo primario: 10 mL del cultivo anterior se transfirieron a 100 mL del medio líquido tetrionato, bilis y verde brillante. El cultivo anterior se incubó a 42 °C durante 24 horas. Al cabo de este tiempo, se prepararon aislamientos sobre placas de agar *Salmonella-Shigella*, agar sulfito de bismuto, agar xilosa, lisina y desoxicolato, y agar verde brillante (Apéndice I).

Las placas se incubaron a 42 °C durante 48 horas. Posteriormente las placas de los diferentes medios empleados se compararon contra un control positivo de *Salmonella* sp., así como también con la bibliografía correspondiente (Koneman *et al.*, 1992; Finegold y Barón 1989; Mac Fadin, 1991).

Ensayo secundario: Las colonias que presentaron las características de bacterias del género *Salmonella*, se transfirieron al medio sólido agar triple azúcar con hierro, mediante siembra en superficie y profundidad, y se compararon los resultados con la bibliografía correspondiente (Koneman *et al.*, 1992; Finegold y Barón 1989; MacFadin, 1991).

Escherichia coli

Preparación de la muestra: 10 g de la hoja pulverizada se suspendieron en 90 mL de caldo lactosa (Apéndice I). La suspensión anterior se agitó para homogenizar y se incubó a 35 °C durante 3 horas. Transcurrido este tiempo se sembró en agar Mac Conkey (Apéndice I) y agar Eosina - azul de metileno. Las placas se incubaron a 42 °C durante 48 horas. Posteriormente las placas de los diferentes medios empleados se compararon contra un control positivo de *Escherichia coli*, así como también con la bibliografía correspondiente (Koneman *et al.*, 1992; Finegold y Barón 1989; MacFadin, 1991).

5.3.10.2.2 Identificación de *Staphylococcus aureus*

La muestra a analizar se preparó de acuerdo a la metodología descrita para *P. aeruginosa*. Posteriormente, se prepararon aislamientos sobre placas de agar sal manitol, agar Voguel Johnson y agar gelosa sangre y se incubaron a 37 °C por 48 horas. Después de las 48 horas, las placas de los diferentes medios empleados se compararon contra un control positivo de *Staphylococcus aureus*, así como también con la bibliografía correspondiente (Koneman *et al.*, 1992; Finegold y Barón 1989; MacFadin, 1991).

Se realizaron las siguientes pruebas bioquímicas, para las colonias sospechosas obtenidas en los medios selectivos con la finalidad de determinar con certeza la presencia de algún microorganismo patógeno (Koneman *et al.*, 1992; Finegold y Barón 1989; MacFadin, 1991).

TABLA 2. Número más probable para usar con diluciones decimales y cinco tubos por dilución (Collins y Lyne, 1989)

P ₁	P ₂	Número más probable dado por P ₃					
		0	1	2	3	4	5
0	0	-----	0.018	0.036	0.054	0.072	0.090
0	1	0.018	0.036	0.055	0.073	0.091	0.110
0	2	0.037	0.055	0.074	0.092	0.110	0.130
0	3	0.056	0.074	0.093	0.110	0.130	0.150
0	4	0.075	0.094	0.110	0.130	0.150	0.170
0	5	0.094	0.110	0.130	0.150	0.170	0.190
1	0	0.020	0.040	0.060	0.080	0.100	0.120
1	1	0.040	0.061	0.081	0.100	0.120	0.140
1	2	0.061	0.082	0.100	0.120	0.150	0.170
1	3	0.083	0.100	0.130	0.150	0.170	0.190
1	4	0.110	0.130	0.150	0.170	0.190	0.220
1	5	0.130	0.150	0.170	0.190	0.220	0.240
2	0	0.045	0.068	0.091	0.120	0.140	0.160
2	1	0.068	0.092	0.120	0.140	0.170	0.190
2	2	0.093	0.120	0.140	0.170	0.190	0.220
2	3	0.120	0.140	0.170	0.200	0.220	0.250
2	4	0.150	0.170	0.200	0.230	0.250	0.280
2	5	0.170	0.200	0.230	0.260	0.290	0.320
3	0	0.078	0.110	0.130	0.160	0.200	0.230
3	1	0.110	0.140	0.170	0.200	0.230	0.270
3	2	0.140	0.170	0.200	0.240	0.270	0.310
3	3	0.170	0.210	0.240	0.280	0.310	0.350
3	4	0.210	0.240	0.280	0.320	0.360	0.400
3	5	0.250	0.290	0.320	0.370	0.410	0.450
4	0	0.130	0.170	0.210	0.250	0.300	0.360
4	1	0.170	0.210	0.260	0.310	0.360	0.420
4	2	0.220	0.260	0.320	0.380	0.440	0.500
4	3	0.270	0.330	0.390	0.450	0.520	0.590
4	4	0.340	0.400	0.470	0.540	0.620	0.690
4	5	0.410	0.480	0.560	0.640	0.720	0.810
5	0	0.230	0.310	0.430	0.580	0.760	0.950
5	1	0.330	0.460	0.640	0.840	1.100	1.300
5	2	0.490	0.700	0.950	1.200	1.500	1.800
5	3	0.790	1.100	1.400	1.800	2.100	2.500
5	4	1.300	1.700	2.200	2.800	3.500	4.300
5	5	2.400	3.500	5.400	9.200	1.600	-----

Pruebas Bioquímicas

Rojo de metilo	Fermentación de Glucosa
Voges-Proskauer	Fermentación de Manitol
Citrato de Simmons	Fermentación de Lactosa
Sulfuro de H ₂	Producción de indol
Ureasa	Sacarosa
Malonato	Motilidad (SIM)
Citocromo oxidasa	

5.3.10.2.3 Identificación de bacterias gram negativo

La identificación de bacterias gram negativo se realizó mediante el empleo del sistema BBLCRYSTAL E/NF ID, Apéndice II.

5.4 DESCRIPCION DEL ANÁLISIS REOLOGICO DE LAS HOJAS PULVERIZADAS DE *Tanacetum parthenium*

1. Apariencia

Se tomo una muestra y se procedió de la siguiente manera, se realizó una selección de las hojas pulverizadas y se analizó su apariencia (color, textura, olor), así también se buscaron cuerpos extraños al material vegetal analizado. Se realizaron seis repeticiones.

2. Determinación de pérdida al secado (FEUM, 2000)

Se colocó sobre la charola de aluminio de la Termobalanza Ohaus (modelo 6010) 5 g de la muestra a analizar. Se accionó la lámpara durante 15 minutos a 80 °C y se registró la lectura del por ciento de pérdida al secado en la muestra. Se realizaron seis repeticiones.

3. Densidad aparente (Da) (Real Farmacopea Española, 1997)

Se pesó una probeta de 50 mL vacía, sin tapón esmerilado y posteriormente se le adicionó la muestra. Se leyó el volumen ocupado por las hojas pulverizadas, se pesó la probeta con la

muestra y se sacó por diferencias de peso, el peso de la muestra. Se realizaron seis replicas. Se calculó la densidad aparente mediante la siguiente fórmula:

$$D_a = m/v$$

m = peso de la hoja pulverizada (g)

v = volumen ocupado (mL)

D_a = Densidad aparente

4. Densidad compactada (D_c) (Real Farmacopea Española, 1997)

Se tapó la probeta que contiene la muestra del anterior análisis con el tapón esmerilado y se dejó caer verticalmente 100 veces sobre una superficie lisa a una altura de aproximadamente 2.5 cm. Se midió el volumen ocupado y se calculó la densidad compactada con la siguiente fórmula. Se realizaron seis repeticiones.

$$D_c = m/v$$

m = peso de las hojas pulverizadas (g)

v = volumen compactado (mL)

D_c = Densidad compactada

5. % de Compresibilidad (Indice de Carr) (Carr, 1965)

Se calculó a partir de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Compresibilidad} = ((D_c - D_a) / D_c) \times 100$$

D_c = densidad compactada

D_a = densidad aparente

Se realizaron seis repeticiones

6. Indice de Hausner (Carr, 1965)

Se calculó a partir de la siguiente fórmula:

$$\text{Indice de Hausner} = D_c / D_a$$

D_c = densidad compactada

D_a = densidad aparente

Se realizaron seis repeticiones

7. Distribución del tamaño de partícula (FEUM, 2000)

Se colocaron en forma ascendente las siguientes mallas base, 300, 250, 200, 120, 100, 80, 60 y 40. se tomó una muestra de 100 g de hoja pulverizada y se colocó en la malla 40, posteriormente, se colocaron las mallas sobre el rotap y se sometieron a agitación durante 20 minutos. Se pesó la hoja pulverizada retenida en cada una de las mallas y se calculó el % en peso retenido en cada malla.

5.5 ESTABILIDAD DE LAS HOJAS PULVERIZADAS DE *Tanacetum parthenium*

Para el estudio de estabilidad de la hoja, se siguió el procedimiento que a continuación se describe: 1 g de la hoja pulverizada fue sometido a diferentes condiciones de temperatura (40 °C, 50 °C, 60 °C; 40 °C/90% de humedad relativa), en estufas de estabilidad con temperatura controlada a 15 días. El material de empaque utilizado fueron frascos viales de vidrio con tapón de hule.

La estabilidad de las hojas se evaluó por apariencia física (cambio de color, aspecto y olor) y por comparación de los espectros de U.V. de las muestras sometidas a las diferentes condiciones con una muestra preparada en el momento, esto se llevó a cabo realizando un barrido de 250-500 nm y registrando la lectura del máximo de absorción, llevando a cabo el siguiente procedimiento: 18 mg de la muestra en estudio fue sometida a un proceso de maceración con 10 mL de metanol durante 15 minutos. El extracto resultante se filtró, para obtener la concentración requerida del producto se transfirió 1 mL del filtrado a un matraz aforado de 10 mL y se llevó al aforo con metanol, de esta última dilución se realizó la lectura de la muestra. En un espectrofotómetro Beckman digital modelo DU-65.

5.6 COMPATIBILIDAD DE COMPONENTES (Elección de los excipientes)

1. Estudio de compatibilidad por condiciones de temperatura y humedad extremas.

Para la realización del estudio de compatibilidad de las hojas de *T. parthenium* frente a los diversos excipientes: celulosa microcristalina (Helmcel 200 MCC 102 NF), lactosa

monohidratada USP 23/NF18 (Pharmatose DCL 11 USP/NF), glicolato sódico de almidón USP/NF, estearato de magnesio y aerosil. se formaron mezclas 1:1, con mezclas finales de 1g. Las muestras se sometieron a las siguientes condiciones: 40 °C, 50 °C, 60 °C y 40 °C/90 % de humedad relativa. Este estudio se llevó a cabo en estufas de estabilidad con temperaturas controladas a 15 días. Los materiales de empaque utilizados fueron frascos viales de vidrio con tapón de hule.

La compatibilidad de las hojas pulverizadas frente a los excipiente se evaluó por apariencia física (cambio de color, aspecto y olor) y comparando los espectros de U.V., de las muestras sometidas a las diferentes condiciones con una muestra preparada en el momento, como se describe en la sección 5.5.

2. Estudio de compatibilidad por calorimetría.

Como en el punto anterior, se formaron mezclas 1:1 de planta-excipiente. Se pesaron 300 mg de muestra en el crisol de aluminio y se colocaron bajo las siguientes condiciones: un flujo de nitrógeno de 25 mL/min y una velocidad de calentamiento de 15 °C/min, en el calorímetro (Modelo DSC7 Perkin-Elmer), posteriormente se accionó este y se trabajo. Obteniendo los termogramas reportados.

5.7 PROCEDIMIENTO DE MANUFACTURA

El procedimiento empleado en este trabajo para la elaboración de la formulación final (Tabla 10) fue el siguiente:

- A. Se pesaron 359.89 g de **celulosa microcristalina (Helmcel 200)**, 85 g de **lactosa monohidratada (Pharmatose DCL 11)**, 34 g de **glicolato sódico de almidón USP/NF**, 354.11 g de hoja pulverizada, 8.5 g de **estearato de magnesio** y 8.5 g de aerosil.
- B. Se paso a través de la malla manual No. 30 la **celulosa microcristalina (Helmcel 200)**, **lactosa monohidratada (Pharmatose DCL 11)**, **glicolato sódico de almidón**, por malla No. 80 el **estearato de magnesio** y el aerosil.

C. Se colocó la **celulosa microcristalina (Helmcel 200)**, **lactosa monohidratada (Pharmatose DCL 11)**, **glicolato sódico de almidón** en un mezclador planetario y se mezcló por 20 minutos a 30 r.p.m.

D. Se colocó la mezcla de polvos en una bolsa de plástico y fue tomada una muestra, para realizar los controles de proceso siguientes:

%Humedad	Angulo de reposo
Velocidad de Flujo	Indice de Carr
Densidad Aparente	Indice de Hausner
Densidad Compactada	Apariencia

E. Se Colocó la mezcla de polvos en un mezclador planetario, se agregó el estearato de magnesio y el aerosil, se mezclo 5 minutos a 30 r.p.m.

F. Se procedió a tabletear la mezcla de polvos en una tableteadora monopunzonica (Modelo Kilian & C, GMBH, Koln-Niehl, TypeKS 705030-214), realizando el control de proceso siguiente:

Variación de peso	Friabilidad
Desintegración	Dureza

G. Se colocó el producto en una bolsa y se procedió a realizar los análisis correspondientes al producto a granel.

Apariencia	Desintegración
Variación de peso	Peso promedio
Friabilidad	Dureza
%Humedad	

H. Una vez realizados los análisis indicados en el punto anterior, se procedió a recubrir las tabletas por el método de película fina con una capa incolora a base de **Eudragit E 12.5**, talco y alcohol isopropilico.

Con base al peso de las tabletas se realizaron los cálculos correspondientes para saber que cantidad de **Eudragit E 12.5**, talco y alcohol isopropilico se requiere para recubrirlas. Se colocaron las tabletas en el bombo, se colocó la pistola de aspersion y el aire, posteriormente se procedió a recubrir las tabletas, bajo las siguientes condiciones:

Presión de aspersión	1 Kg/cm ²
Presión de trabajo	6 Kg/cm ²
Velocidad de la bomba	9 rpm
Velocidad del bombo	14 rpm
Temperatura de inyección de aire	55 °C

I. Se colocó el producto terminado en una bolsa y se procedió a analizar.

Apariencia	Desintegración
Variación de peso	Peso promedio
Friabilidad	Dureza
Uniformidad de dosis	%Humedad
Limites microbianos	

5.8 DESCRIPCIÓN DEL ANÁLISIS REOLÓGICO DE LA MEZCLA DE POLVOS

1. **Apariencia** (Ver descripción del análisis reológico de las hojas pulverizadas, sección 5.4)

2. **Determinación de pérdida al secado** (Ver descripción del análisis reológico de las hojas pulverizadas, sección 5.4)

3. **Densidad aparente (Da)** (Ver descripción del análisis reológico de las hojas pulverizadas, sección 5.4)

4. **Densidad compactada (Dc)** (Ver descripción del análisis reológico de las hojas pulverizadas, sección 5.4)

5. **Angulo de reposo (a)** (Real Farmacopea Española, 1997)

Se colocó el embudo sobre el anillo de hierro de tal manera que la punta del embudo quedó a una altura de 5 cm de la base del soporte, se pesaron 40 g de la mezcla de polvos y se obstruyó la

salida del embudo con una espátula, se adicionó la mezcla de polvos pesada en el embudo. Se retiró la espátula y se dejó caer el polvo. Se midió posteriormente la altura y el diámetro del cono formado y se calculó el ángulo de reposo con la siguiente fórmula. Se realizaron seis repeticiones.

$$a = (H/R)$$

H= altura del cono (cm)

R= radio del cono (cm)

a = Angulo de reposo

6. Velocidad de Flujo (VF)

Se pesaron 40 g de la mezcla de polvos, se colocaron en el embudo de acero inoxidable del flujómetro y se accionó el equipo. Posteriormente se registró la lectura del equipo, que fue el tiempo en segundos que tardó en pasar el polvo. Se realizaron seis repeticiones. Se calculó la velocidad de flujo con la siguiente fórmula:

$$VF = m/t$$

m = peso de la mezcla de polvos (g)

t = tiempo (s)

VF = Velocidad de flujo

7. % de Compresibilidad (Índice de Carr) (Ver descripción del análisis reológico de las hojas pulverizadas, sección 5.4)

8. Índice de Hausner (Ver descripción del análisis reológico de las hojas pulverizadas, sección 5.4)

5.9 DESCRIPCIÓN PARA EL ANÁLISIS DE TABLETAS

1. Apariencia

Se tomó una muestra y se procedió de la siguiente manera, se analizó su apariencia (color, textura, olor, tamaño y forma). Se realizaron 6 repeticiones.

2. Dureza (Farmacopea Británica, 1998)

Se tomaron 20 tabletas y se colocó una a una cada tableta en el Durómetro Schleuniger-ZF y se accionó el equipo, se anotó la dureza registrada. Se calculó el promedio de las 20 tabletas.

3. Peso promedio (USP 24, 1999)

Se pesó individualmente 20 tabletas en la Balanza Analítica Ohaus (modelo AS120) y se anotó el peso. Se calculó el promedio de las 20 tabletas.

4. Friabilidad (USP 24, 1999)

Se tomaron 20 tabletas. se limpiaron con un cepillo y posteriormente se pesaron juntas, se anotó el peso (PI) y se colocaron en el Fragilizador Erweka T. A, se accionó el equipo a una velocidad de 20 r.p.m., durante 5 minutos. Posteriormente se retiró cuidadosamente el polvo de las tabletas con un pincel, se pesaron nuevamente y se anotó el peso (PF). Se calculó el por ciento de Friabilidad a partir de la siguiente fórmula:

$$\% \text{Friabilidad} = ((\text{PF}-\text{PI}) / \text{PF}) \times 100$$

5. Tiempo de desintegración (FEUM, 2000)

Se utilizó un Desintegrador Modelo Elecsa Des-30. Se colocaron 900 mL de agua destilada en un vaso de 1000 mL, se calentó a baño María el agua del vaso a una temperatura de $37 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ $^{\circ}\text{C}$ y se depositaron en la canastilla 6 tabletas (una en cada tubo), se colocaron los discos, se accionó el equipo y se comenzó a medir el tiempo en que tardan en desintegrarse las tabletas completamente.

6. Determinación de pérdida al secado (FEUM, 2000)

Se pulverizaron 65 tabletas equivalentes a 18 g. Se colocaron en la charola de aluminio vacía de la Termobalanza Ohaus (modelo 6010) 3 g de la mezcla de polvos, se accionó la Termobalanza durante 15 minutos a $80 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Se leyó en la Termobalanza el por ciento de humedad. Se realizaron seis repeticiones.

7. Uniformidad de dosis por el método de variación de peso (USP 24, 1999)

Muestra

Se pesó con precisión individualmente 10 tabletas y se calculó la masa promedio. Se pulverizaron y se tomaron 43 mg del polvo resultante, se pasaron a un matraz volumétrico de 10 mL y se aforó con metanol, se filtró y se tomó una alícuota de 1 mL y se aforó a 10 mL con metanol.

Referencia

Se pesaron 18 mg de hoja pulverizada y se pasaron a un matraz volumétrico de 10 mL, se aforó con metanol, se filtró y se tomó una alícuota de 1 mL y se aforó a 10 mL con metanol. Ambas muestras se leyeron en el Espectrofotómetro Beckman digital (modelo DU-65), en UV a 320 nm.

8. Recuento de organismos mesófilos aerobios (FEUM, 2000)

Recuento de Bacterias (Método en placa).

Se pulverizaron 40 tabletas para pesar 10 g y se procedió a realizar su control microbiológico, como se describe en la sección 5.3.10.1.1, se realizaron cinco repeticiones.

Después del periodo de incubación se contó el número de UFC (Unidades Formadoras de Colonias), auxiliándose de una lupa. Se anotó el promedio de colonias por dilución y se informó el número de UFC por tableta del producto, se consideró el factor de dilución de la muestra.

Recuento de hongos filamentosos y levaduras (Método en placa).

Se pulverizó el número de tabletas necesarias para pesar 10 g y se procedió a realizar su control microbiológico, como se describe en la sección 5.3.10.1.2.

Después del periodo de incubación se contó el número de UFC, auxiliándose de un contador de colonias. Se anotó el promedio de colonias por dilución, se registró el número de UFC por tableta del producto, considerando el factor de dilución de la muestra (FEUM, 2000).

Como no se observó desarrollo en la dilución 1:10, se expresaron los resultados como: menos de 10 UFC por tableta del producto (FEUM, 2000).

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

6.1 BIOENSAYO PRELIMINAR DE LA RELAJACIÓN DEL MUSCULO LISO DE AORTA DE RATA.

La partenólida y los extractos clorofórmicos de *T. parthenium* provocan vasorelajación en aorta aislada de rata (Barsby *et al.*, 1992; Barsby *et al.*, 1993; Hay *et al.*, 1994).

Una vez contraído el tejido con fenilefrina (10^{-6} M), se adicionó el extracto clorofórmico de la hoja de *T. parthenium* y se observó la relajación del músculo liso de la aorta de rata en un 100%, para la concentración de 300 µg/mL y siendo menor para la concentración de 100 µg/mL, como se observa en la figura 2.

Este experimento preliminar, permitió demostrar que las hojas de *T. parthenium* cultivadas en México tienen la misma actividad vasorelajante, a pesar de no contener partenólida como se menciona más adelante en la sección 6.2 (Figuras 2 y 4), que la descrita en la bibliografía para *T. parthenium* que contiene partenólida. Lo cual indica que la planta cultivada en México, puede contener otros metabolitos responsables de esta actividad.

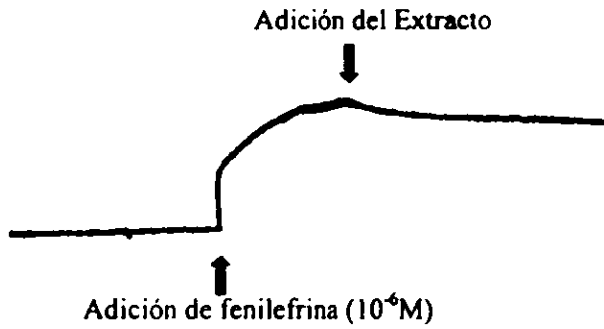
6.2 ANÁLISIS POR CG-EM.

El método de CG-EM nos permitió conocer la presencia de los diferentes compuestos presentes en la planta, por medio de la resolución y separación de los constituyentes de la planta, y también por su espectro de masas.

La presencia de la partenólida en el *T. parthenium* se ha asociado a la actividad biológica de la planta, de hecho se ha tomado como compuesto marcador para la estandarización de los extractos de esta planta (Heptinstall *et al.*, 1992), sin embargo es conocido que *T. parthenium* que crece en América carece de este compuesto y de manera arbitraria se ha descalificado como materia prima para la elaboración de formulaciones para el tratamiento de la migraña (Heptinstall. *et al.*, 1992; Romo *et al.*, 1970).

ESTA TESIS
SALIR DE LA
NO DEBE
BIBLIOTECA

1. Extracto clorofórmico de la hoja de *Tanacetum parthenium* (Concentración 100 µg/mL)



2. Extracto clorofórmico de la hoja de *Tanacetum parthenium* (Concentración 300 µg/mL)

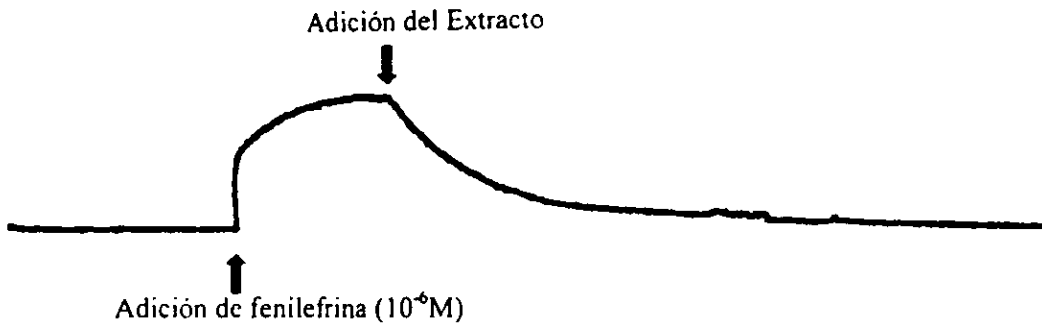
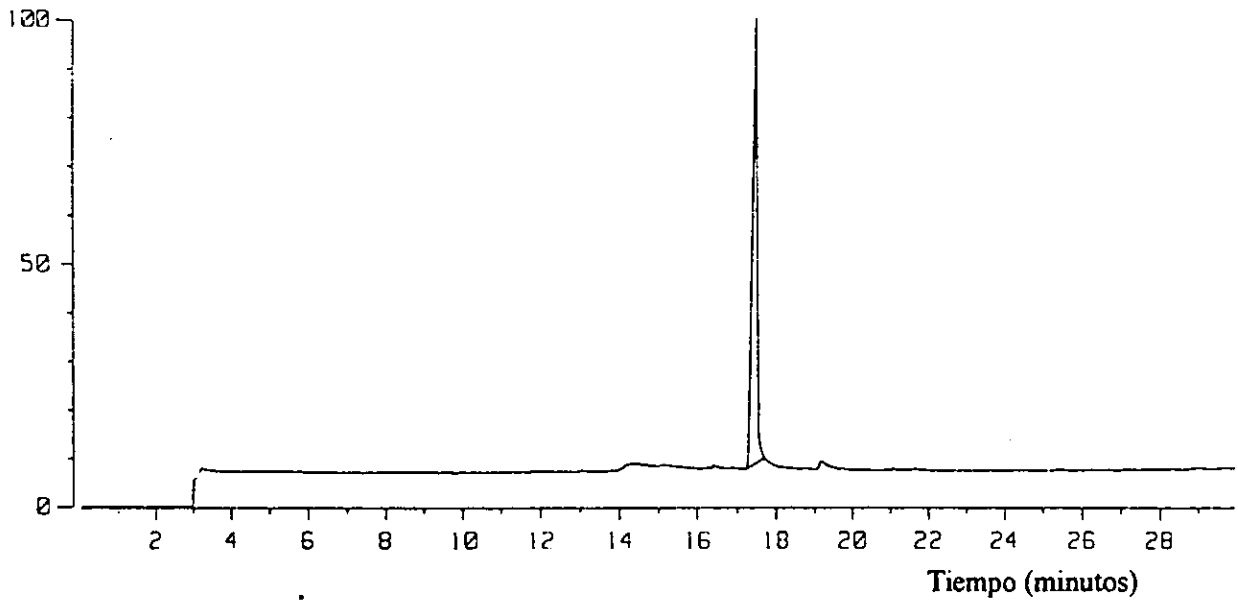


Figura 2. Relajación del músculo liso de aorta de rata.

1. Partenólida



2. Extracto clorofórmico de la hoja de *Tanacetum parthenium*

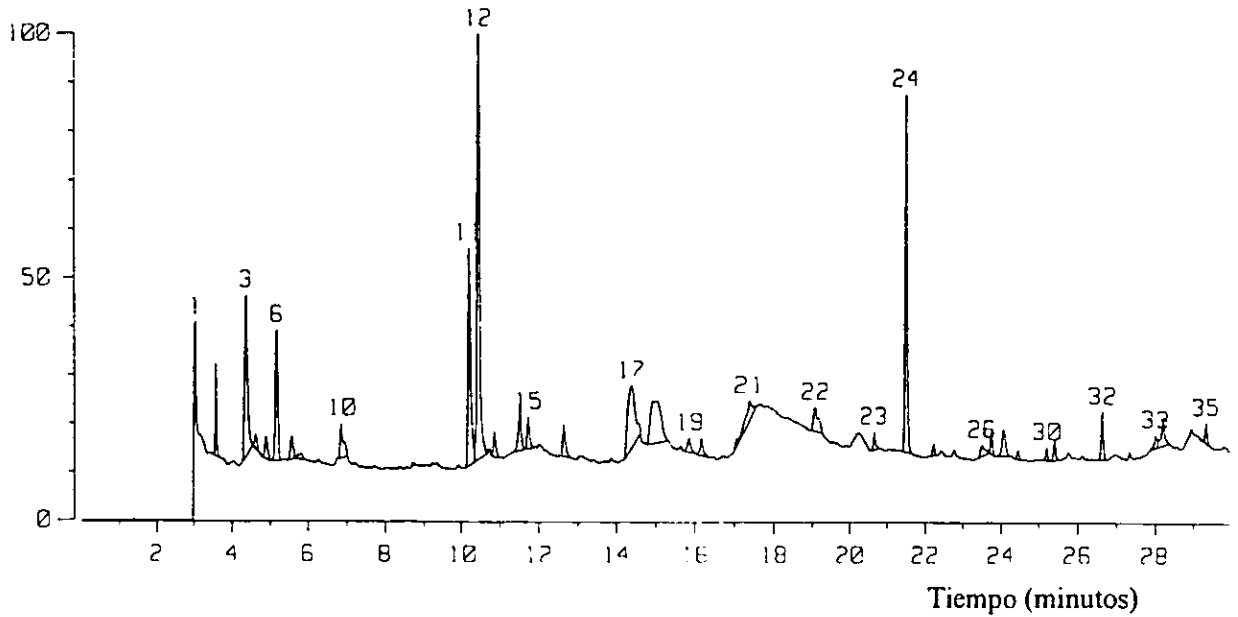


Figura 3. Cromatogramas generados por CG-EM.

Por lo mencionado anteriormente, en el presente trabajo se decidió conocer si la planta *T. parthenium* cultivada en México contenía partenólida, llevándose a cabo un análisis por CG-EM para el extracto de la planta y comparando el cromatograma obtenido contra su respectiva referencia auténtica de partenólida (Ver Figura 3).

Los resultados obtenidos indican que la partenólida con un tiempo de retención de 17.51 minutos no se encuentra presente en el extracto de las hojas de *Tanacetum parthenium*. El extracto presenta compuestos con tiempos de retención cercanos a 17.51 minutos (Pico 21, $t_R = 17.35$ minutos) con lo cual cabría la posibilidad de la presencia de la partenólida (Ver Figura 3). Pero esto se descarta de manera definitiva ya que el espectro de masas fue muy distinto al de la partenólida. Además el análisis por cromatografía en capa fina, que se empleó como técnica para la identificación de la especie, también demostró la ausencia de la partenólida en los extractos clorofórmicos de la hoja, flor y tallo, como se puede apreciar en la figura 4, encontrándose que el R_f de la partenólida no coincidió con ninguno de los extractos clorofórmicos antes mencionados; así como tampoco el color azul-morado que caracteriza a la partenólida al ser revelada la placa con el cromógeno, se observó en los extractos a ese mismo R_f , por lo tanto se puede decir que la Santa María (*Tanacetum parthenium*) cultivada en México no presenta partenólida, pero si posee actividad como se demostró anteriormente (Ver Figura 2 y 3).

6.3 CONTROL DE CALIDAD DEL MATERIAL VEGETAL (Hojas de *Tanacetum parthenium*).

Ante el incremento significativo en el uso de los medicamentos herbolarios a partir de los años sesenta, se ha evidenciado la necesidad de asistir a las autoridades regulatorias, a organizaciones científicas y a fabricantes con información actualizada y autorizada.

Un reflejo de la presencia creciente de los medicamentos herbolarios y un indicador de tendencias futuras se manifiesta en la apremiante preocupación por parte de la OMS (OMS, 1988) por definir los criterios básicos para evaluar su calidad, seguridad y eficacia. Así mismo este organismo internacional planteó la necesidad de elaborar monografías específicas para cada

planta medicinal, que incluya los métodos generales de control de calidad. En el caso de la planta medicinal objeto del presente estudio, la edición vigente de la Farmacopea de los Estados Unidos de Norteamérica (USP 24), contiene la monografía para evaluar la calidad de esta planta. Sin embargo en México no se cuenta con una monografía que describa la estrategia metodológica para evaluar la calidad de esta especie.

La identificación de la especie *Tanacetum parthenium* se llevo a cabo con un análisis cualitativo por cromatografía en capa fina. se prepararon extractos de cloroformo del tallo, flor y hoja, y se compararon cromatográficamente con un extracto estandarizado y con una solución estándar de partenólida. Como se puede observar en la figura 4, los extractos analizados son cromatográficamente similares con el extracto de referencia, la única diferencia es que este último presenta una ligera coloración al mismo Rf que la partenólida (Rf de la partenolida 1.23 cm) y del mismo tono de color. Lo que nos indica que el extracto de referencia si presenta partenólida y las muestras analizadas (hoja, flor, y tallo) no presentan este metabolito, ya que ninguno de los extractos analizados presenta una coloración al mismo Rf de la partenólida.

El proceso de control de calidad se inicio con la determinación de elementos extraños, el material vegetal examinado mediante inspección visual se encontró libre de contaminación por materias orgánicas (insectos, animales pequeños, etc), no obstante se encontraron materias extrañas como plástico, piedras, polvo, etc., las cuales constituyen en promedio el 0.41% con relación al peso de la planta. Es importante destacar que la flor y el tallo, se consideraron elementos extraños, ya que no constituyen la planta vegetal propiamente dicha. Los elementos extraños pueden ser un indicativo de la manipulación que ha sufrido la planta y en consecuencia sufrir una disminución en sus propiedades terapéuticas por contaminación, además de provocar un mal aspecto al material vegetal y también causar interferencia en las pruebas de control posteriores.

Una vez realizada la determinación de elementos extraños, se procedió a secar las hojas de *T. Parthenium* y a fragmentarlas en un molino Thomas-Willey modelo 4 a tamaño de polvo fino (malla 200), con la hoja pulverizada se realizaron los diferentes ensayos de control de calidad.

Como se desprende de los resultados obtenidos en la Tabla 3 los valores obtenidos en la

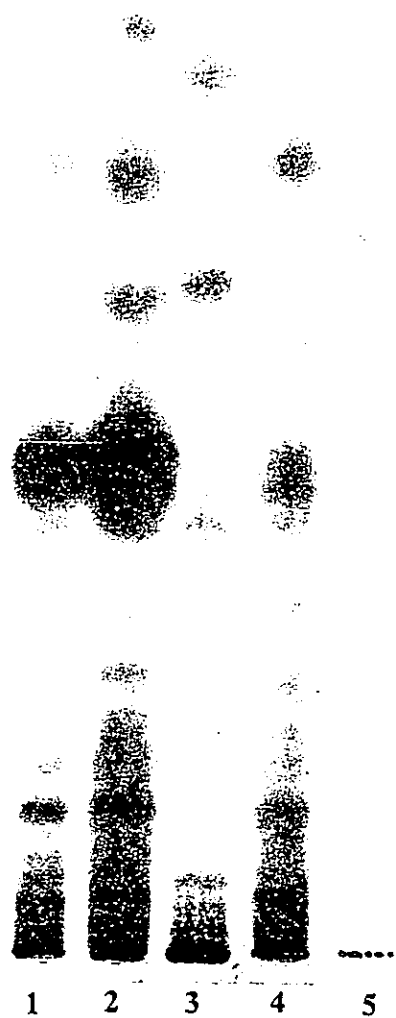


Figura 4. Cromatografía en capa fina.

1. Tallo 2. Flor 3. Extracto de referencia 4. Hoja 5. Partenólida

presente investigación se encuentran en armonía con los límites reportados en la USP 24. Sin embargo, en el caso particular del contenido de cenizas totales se observó una pequeña diferencia en el resultado obtenido y su respectivo límite. Es importante dejar en claro que el contenido de cenizas totales se encuentra sujeto a variaciones ontogénicas y de tipo geográfico (suelo, clima, etc.). En la tabla 3 se resumen los resultados del control de calidad efectuados al material vegetal.

TABLA 3. Control de calidad del material vegetal (Hojas de *Tanacetum parthenium*).

PRUEBA	RESULTADOS (media y desviación estándar)	LIMITES USP
**Elementos extraños	0.41 ± 0.10	10.0 %
**Perdida al secado	6.77 ± 0.15	10.0 %
*Cenizas totales	13.032 ± 0.076	13.0 %
*Cenizas insolubles en ácido	0.92 ± 0.09	3.0 %
**Índice de hinchamiento	258 ± 22.56	-
*Material extraíble en hexano	1.643 ± 0.205	-
*Material extraíble en Etanol – Agua 70 %	7.6206 ± 0.1424	No menos del 15 %
*Material extraíble en Etanol	3.2924 ± 0.2737	-
*Fibra cruda	0.0689 ± 0.0106	-
*Metales pesados Plomo Cadmio Mercurio	1.25 ppm Ausencia Ausencia	No más del 0.002 %
*Bacterias aerobias totales	2.54 x 10 ⁶ / gramo de muestra Presencia de <i>Klebsiella oxytoca</i>	La cuenta total de bacterias no debe de ser mayor de 10,000 por ramo.
*Hongos y levaduras	Menos de 10 UFC / gramo de muestra	Debe presentar ausencia de <i>almonella</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i>
*NMP	2.2 x 10 ⁶ / gramo de muestra	

Cada valor representa el promedio de *5 ó **6 repeticiones independientes y se encuentran expresados en porcentaje

Recuento de microorganismos aerobios viables totales.

El recuento de microorganismos aerobios viables totales, se determinó por los métodos de recuento en placa (UFC) y dilución serial (NMP) (FEUM, 2000). Mediante la aplicación de estos

métodos, se realizó tanto el recuento de bacterias como de hongos filamentosos y levaduras. Los resultados de estas determinaciones indican que el material vegetal objeto de estudio presenta una cuenta microbiana total de 2.54×10^6 microorganismos por gramo de muestra. Los resultados obtenidos rebasan el límite establecido por la OMS (1×10^5 UFC/gramo), para plantas medicinales de consumo humano. Sin embargo en el campo de los productos alimenticios se considera que la carga microbiana total tiene una importancia relativa con respecto a la ausencia de microorganismos patógenos y al límite en el número de enterobacterias. Por otra parte el material vegetal cumple con los requerimientos para la contaminación por hongos y levaduras.

Determinación de microorganismos patógenos.

Debido a que la cuenta de bacterias aerobias fue muy elevada y siguiendo los procedimientos de la OMS (OMS, 1988), se realizaron pruebas para microorganismos patógenos (*Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*).

La identificación de microorganismos patógenos en la planta pulverizada se realizó mediante la evaluación de las características metabólicas de los microorganismos en diferentes medios de cultivo.

Para la identificación de la especie *Staphylococcus aureus*, se utilizaron los medios de manitol sal agar, Vogel Jonson y agar sangre de carnero, de manera general las características morfológicas de las colonias desarrolladas por el material vegetal no corresponden con las características morfológicas desarrolladas por la cepa de referencia.

En el caso de la especie *Pseudomonas aeruginosa* no se presentó crecimiento microbiano en la superficie del medio agar cetrimida, así mismo las pruebas bioquímicas características de este microorganismo dieron negativas, como lo es la producción de la enzima citocromoxidasa que es característica de esta especie.

Para identificación de la especie *Escherichia coli* se emplearon los medios MacConkey y EMB (eosina – azul de metileno), cabe destacar que la morfología de las colonias desarrolladas en la superficie de estos medios no corresponde con las características descritas en la literatura para estos microorganismos.

Finalmente la identificación de la especie *Salmonella sp* se realizó utilizando los medios de

agar XLD, agar sulfito de bismuto, agar verde brillante y agar *Salmonella-Shigella*. De manera general las características morfológicas de las colonias desarrolladas por el material vegetal no corresponden con las características desarrolladas por la cepa de referencia.

Los resultados de estas evaluaciones sugieren que el material vegetal se encuentra libre de contaminación por microorganismos patógenos, sin embargo para la confirmación del resultado se realizaron pruebas bioquímicas adicionales. Los resultados de estas evaluaciones se resumen en la Tabla 4.

Un análisis comparativo de los resultados obtenidos en la Tabla 4, con aquellos reportados en la literatura sugieren que la especie recuperada pertenece al genero *Klebsiella*.

Con la finalidad de corroborar la presencia del genero *Klebsiella*, se empleó un kit comercial BBLCRYSTAL, (Equipo para la identificación de patógenos entéricos/no fermentantes), para la identificación de bacterias gram-negativas Este Kit contiene 30 sustratos bioquímicos diferentes y de acuerdo con el análisis estadístico realizado por el sistema, los resultados fueron 99.6 % reproducibles de acuerdo al certificado del equipo.

El análisis detallado de estos estudios permitió comprobar la presencia de la especie *Klebsiella oxytoca*. Esta bacteria es considerada como parte de la flora fecal normal, algunas cepas se encuentran en el medio ambiente. Lo cual explica su presencia en el material vegetal. Se han aislado de tracto respiratorio, orina, heridas y sangre (Finegold and Barón, 1989).

Considerando el origen de la muestra (Mercado de Sonora), era de esperarse tanto una cuenta microbiana elevada, como la presencia de algún microorganismo de origen fecal, debido a que las condiciones en el cultivo y la recolección del material vegetal no fueron las óptimas bajo las cuales se debe tratar un material vegetal que se va a emplear para el consumo humano. Ya que no se cuenta con la infraestructura adecuada como serian cultivos de plantas dedicadas al uso exclusivo de consumo humano, regadas y tratadas de la manera más higiénica posible y que se encuentren en un control de calidad continuo. No se justifica la presencia de *Klebsiella oxytoca*, pero la ausencia de microorganismos patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella typhi* (considerados en los documentos de la OMS, 1988), nos deja ver que a pesar de la contaminación tan elevada del material vegetal, este no podría llegar a ser causa de muerte para el humano. También se debe considerar que es una práctica

común en este tipo de productos la esterilización por diferentes medios, dependiendo de los constituyentes químicos de la planta, con lo que se conseguirá tener un producto libre de microorganismos.

Para una mejor calidad del material vegetal y considerando la mala calidad en el cultivo de la planta, así como su recolección y añadiendo que no se cuenta con un cultivo adecuado para la producción de la planta medicinal con fines farmacéuticos. Se recomienda esterilizar el material vegetal mediante procedimientos indicados en la monografía, antes o una vez concluido el proceso de tableteado. En la tabla 3 se resumen los resultados del control de calidad efectuados al material vegetal.

TABLA 4. Resultados de las pruebas bioquímicas para bacterias presentes en las hojas de *Tanacetum parthenium*, así como los resultados reportados en la bibliografía para enterobacterias y *P. Aeruginosa*.

Prueba Bioquímica	Hoja de Santa María	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Salmonella s.p</i>	<i>Pseudomona aeruginosa</i>
Rojo de metilo	-	-	+	+	+	-
Voges-Proskauer	+	+	-	-	-	-
Citrato de Simmons	+	+	-	-	+	+
Sulfuro de H ₂	-	-	-	+	+	-
Fermentación de Lactosa	+	+	+	-	-	-
Glucosa	+	+	+	+	+	-
Manitol	+	+	+	+	+	-
Motilidad (SIM)	-	-	+	+	+	+
Producción de Indol	+	+	+	-	-	-
Ureasa	+	+	-	-	-	v
Malonato	+	+	-	-	-	+
Sacarosa	+	+	-	-	-	-
Citocromoxidasa	-	-	-	-	-	+

(-) Prueba negativa (+) Prueba positiva (v) Prueba variable

Los resultados obtenidos para el control de calidad de las hojas de *Tanacetum parthenium* nos llevan a la propuesta de una Monografía, como se describe a continuación.

**MONOGRAFIA PROPUESTA PARA LAS
HOJAS PULVERIZADAS DE *Tanacetum
parthenium* (L) Schultz-Bip., Asteraceae**

Nombre Científico *Tanacetum parthenium*
(L) Schultz-Bip., Asteraceae.

Sinónimos. *Chrysanthemum parthenium* L.
Bernh., *Leucanthemum parthenium* (L.) Gren y
Gordon, y *Pyretrum parthenium*.

Nombres Comunes Santa María, Altamisa,
Manzanilla Silvestre, Matricaria, Quinina
silvestre, Amarganza, Hierba Santa,
Mastranzo.

Descripción. Es un arbusto pequeño de 15 a
60 cm de alto. Las hojas tienen un color verde
amarillo, son alternas, pecioladas, ovaladas y
divididas pinadamente, tienen los bordes lisos
o crenados. Las flores, que aparecen en julio a
octubre, están dispuestas en corimbos de hasta
30 piezas, con algunas florecillas blancas
alargadas y otras amarillas en forma de disco
con brácteas involucradas cubiertas de pelusa.
Las flores se parecen a las de la manzanilla
(*Matricaria chamomilla*) con la que algunas
veces se confunde.

Procedencia. Especie originaria de Irán. Irak
y de Europa. En México se encuentra
distribuida en los estados de Chiapas, Oaxaca,
Guerrero, Morelos, Tlaxcala y Veracruz.

Composición. Destaca la presencia de
lactonas sesquiterpénicas.

Usos. Se ha utilizado como febrífugo, para el
tratamiento de la artritis, la migraña y el
asma.

Apariencia. Las hojas secas y pulverizadas
presentan una textura suave al tacto y
presentan un color verde oscuro.

Olor. Característico fuertemente aromático,
penetrante.

Sabor. Amargo

Elementos extraños. No más del 0.51%

Cenizas totales. No más del 13.11%

Cenizas insolubles en ácido. No más del
1.02%

Perdida al secado. No más del 6.92%

Índice de hinchamiento. No más del
280.56%

Material extraíble en hexano. No menos
del 1.44 %

Material extraíble en Etanol-Agua 70%.
No menos del 7.76%

Material extraíble en Etanol. No menos del
3.57%

Fibra cruda. No más de 0.079%

Metales pesados.

Plomo menos de 10 ppm

Cadmio menos de 0.3 ppm

Mercurio menos de 0.1 ppm

Ver guía de la OMS (OMS; 1988) del control de medicamentos herbolarios.

Microbiología

El material vegetal debe mostrar ausencia de microorganismos patógenos tales como:

- *Salmonella typhi*
- *Salmonella sp*
- *Staphylococcus aureus*
- *Pseudomonas aeruginosa*

El límite máximo aceptable para otros microorganismos es de:

No más de 10^5 /g Bacterias aerobias

No más de 10^1 /g *Escherichia coli*

No más de 10^3 /g de otras enterobacterias que no sean *Salmonella*.

No más de 10^3 /g Hongos y Levaduras

Ver guía de la OMS (OMS; 1988) del control de calidad para medicamentos herbolarios.

6.4 REOLOGÍA DE LAS HOJAS PULVERIZADAS DE *Tanacetum parthenium*

La hoja pulverizada hasta polvo fino (malla 200) presenta un color verde oscuro y al tacto su consistencia es aceitosa.

Los resultados obtenidos en el porcentaje de compresibilidad (Índice de Carr) e Índice de Hausner indican que el flujo es pobre, esto puede deberse a la consistencia de aceite que presenta la hoja comparada con los principios activos utilizados para la elaboración de medicamentos alópatricos, por lo tanto se requiere el empleo de un elevado porcentaje tanto de lubricante, como de deslizante, para mejorar las condiciones de flujo, de tal manera que se facilite el proceso de tableado. Los resultados de estas determinaciones se resumen en la Tabla 5. Como se puede observar en la Gráfica 1 la compactación de la hoja pulverizada se mantiene constante después de 60 golpes, lo que nos indica que nuestro polvo es fácilmente compactable ya que los espacios de aire entre cada partícula son pequeños, esto se puede apreciar con el valor de compactación el cual es apreciable siendo de 39.96 %.

La finura de un polvo puede expresarse, en relación a los tamices que cumplen las especificaciones de los tamices no analíticos, ya que cuando la finura de un polvo se determina por tamizado, se define en función del número o números del tamiz o de los tamices utilizados.

La distribución del tamaño de partícula se realizó empleando la metodología descrita en el punto 7 de la sección 5.4. En la tabla 6 y la Gráfica 2 se observa la distribución del tamaño de partícula, donde se ve claramente que la mayor parte se encuentra retenida en la malla No. 120, siendo el porcentaje retenido en la malla de 22.326 %, por lo que se considera que tiene un tamaño de partícula de 125 μm y una distribución homogénea, donde el histograma de frecuencias presenta una distribución normal. Por lo que se podría considerar que su distribución es aceptable. Esta característica de polvo fino y su pobre fluidez hace concluir que la forma de la partícula es irregular, los polvos de plantas presentan estas formas además de cierta abrasividad y cohesividad durante su manejo.

TABLA 5. Reología de las hojas pulverizadas de *Tanacetum parthenium*.

PRUEBA	LIMITE	RESULTADO
Apariencia	Polvo de color verde olivo de consistencia suave y aceitosa al tacto	Polvo de color verde oscuro
Perdida al secado	Alrededor del 10 %	6.77 %
Densidad aparente (Da)	Sin limite	0.344 g/mL
Densidad compactada (Dc)	Sin limite	0.573 g/mL
Indice de Carr (% de compresibilidad)	% Compresibilidad 12-16 Buena 18-21 Regular 22-35 Pobre 33-39 Muy pobre	39.96 % Flujo muy pobre
Indice de Hausner	Valores < 1.25 indican buen flujo Valores > 1.5 indican pobre flujo	1.66 Flujo pobre

Cada valor representa el promedio de 6 repeticiones.

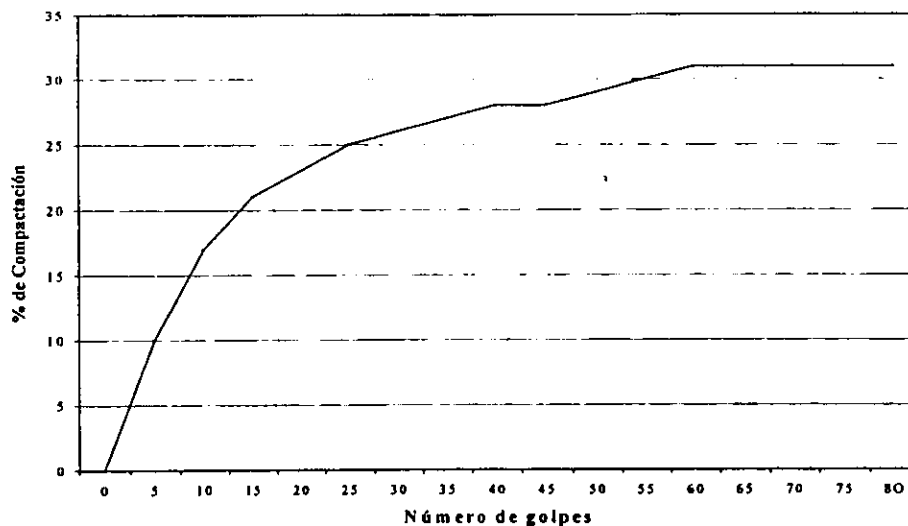
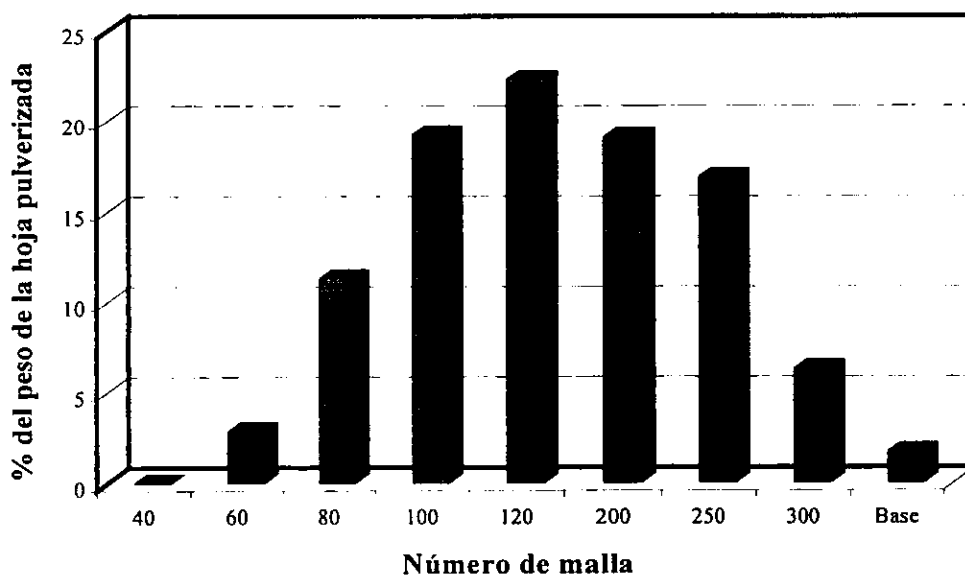
Gráfica 1. Por ciento de compactación de las hojas pulverizadas de *Tanacetum parthenium*

TABLA 6. Distribución del tamaño de partícula de las hojas pulverizadas de *Tanacetum parthenium*.

Malla	Peso de las hojas	% En Peso	% En Peso Acumulado
40	0.043	0.04	0.04
60	2.866	2.87	2.91
80	11.368	11.37	14.28
100	19.262	19.26	33.54
120	22.326	22.33	55.87
200	19.153	19.15	75.02
250	16.929	16.93	91.95
300	6.329	6.33	98.28
Base	1.721	1.72	100.00
	99.997	100	

NOTA: Promedio de dos determinaciones.



Gráfica 2. Histograma de la distribución del tamaño de partícula, de las hojas pulverizadas de *Tanacetum parthenium*

6.5 ESTABILIDAD DE LAS HOJAS PULVERIZADAS DE *Tanacetum parthenium*

Los resultados obtenidos (Tabla 7 y 8), demuestran que no se presentó degradación de la hoja de *Tanacetum parthenium* debido a que no se observó cambio físico de color en la hoja pulverizada al analizarla visualmente, así como también no se presentó variación en el máximo de absorbancia del extracto metanólico, en las muestras sometidas a las diferentes condiciones de temperatura y humedad (40 °C, 50 °C, 60 °C; 40 °C a 90 % de humedad relativa), al comparar los espectros de U.V de las muestras sometidas a las diferentes condiciones con una muestra preparada en el momento.

6.6 COMPATIBILIDAD DE COMPONENTES (Elección de los excipientes).

Los excipientes de la formulación, para las tabletas por compresión directa de *Tanacetum parthenium*, se seleccionaron con base a los resultados obtenidos en las pruebas de compatibilidad excipiente–hoja pulverizada. Realizados de dos maneras, compatibilidad por condiciones extremas de temperatura y humedad (Tabla 7 y 8) y compatibilidad por calorimetría (Termogramas, apéndice III).

El **fosfato de calcio dibásico** tiene la propiedad de ser diluyente, por lo que se consideró para los estudios de compatibilidad de esta formulación, se tiene que en las pruebas de compatibilidad los resultados mostraron que interaccionó demasiado con la planta, ya que se observó un cambio notable en la coloración de la muestra pasando de un color verdoso a un color café-verdoso (Tabla 7 y 8), así como también un cambio notable en el termograma (Apéndice III, Figura 5a). La **lactosa anhidra** también considerada para esta formulación, presentó una mayor interacción con la planta en los estudios de compatibilidad, que la **lactosa monohidratada** también considerada en la formulación, por lo que se seleccionó a esta última como agente diluyente, ya que el único inconveniente fue que presentó una ligera interacción a altas temperaturas (60 °C) y con 90 % de humedad relativa a 40 °C y aun así es mucho menos la interacción que presenta

comparada con los anteriores diluyentes propuestos (Tablas 7 y 8; Apéndice III, Figuras 2a, 5a y 8a).

Otro diluyente que se selecciono para la formulación, fue la **celulosa microcristalina 200**, que presenta casi los mismos resultados de compatibilidad que la **celulosa microcristalina 100** a excepción de los obtenidos a la temperatura de 40 °C a 90 % de humedad relativa, en donde se observa una mayor interacción de esta última con la planta (Tablas 7 y 8). Debido a esta pequeña diferencia, que se puede apreciar mejor en los termogramas, ya que en el rango de temperaturas de 150 °C a 190 °C, si comparamos los termogramas de la celulosa microcristalina 200 y 100 con el de la hoja, podemos observar un cambio en este rango para la celulosa microcristalina 100, lo cual no sucede con la celulosa microcristalina 200, ya que se mantiene parecido al termograma de la hoja (Apéndice III, Figuras 1a, 3a y 4a), por lo que se opto por seleccionar a la celulosa microcristalina 200.

Como agente desintegrante se empleó **glicolato sódico de almidón**, el cual no mostró interacción apreciable con las hojas (Tablas 7 y 8; Figura 7a).

Como lubricante y deslizante se tiene en la formulación al **estearato de magnesio** y al aerosil, donde la mayor interacción planta-excipientes con el estearato de magnesio se observó a temperaturas elevadas (60 °C) y a la temperatura de 40 °C con humedad relativa de 90% (Tabla 6 y 7; Apéndice III, Figuras 6a y 10a). Es importante mencionar que también tiene propiedades antiadherentes. El aerosil también presentó interacción, pero considerando las condiciones del estudio con respecto a la proporción planta-excipientes (1:1) y sabiendo que en la formulación se encuentran en un porcentaje muy bajo (1%), estos resultados obtenidos de los estudios de compatibilidad para el estearato de magnesio y el aerosil no reflejan la realidad en la formulación de la tableta, ya que si hay una interacción esta sería menor que los resultados obtenidos, debido a la proporción en la que estarían en la formulación. Esto último también sería aplicable a los demás excipientes empleados en la formulación ya que todos los estudios de compatibilidad fueron 1:1 y en la formulación la relación es diferente, sin embargo es indicativo de las interacciones potenciales.

El **plasdone** que es un agente cohesivo presentó una interacción marcada con la planta por lo que no se consideró como excipiente de esta formulación. Además, ya anteriormente se había

seleccionado a la lactosa monohidratada que presenta mejores resultados en las pruebas de compatibilidad y que además de ser diluyente tiene propiedades cohesivas (Ver tabla 7 y 8). Los termogramas de los estudios de compatibilidad se presentan en las figuras 1a a la 10a del apéndice III, donde se pueden ver cambios notables y no solamente en el rango de temperatura de 150 °C a 190 °C, como sucede con otros excipientes, esto se puede verificar si se comparan los termogramas de la hoja pulverizada con los de la mezcla de polvos del pladone-hoja pulverizada.

En el caso de medicamentos herbolarios (fitomedicamentos) es difícil elegir los excipientes que van a ser empleados, debido a que no sólo es un principio activo, sino una mezcla de compuestos y es difícil encontrar que ninguno de los excipiente interaccione con los componentes de la hoja. Pero siempre existe la posibilidad de que alguno interaccione, en una forma mínima, esto debido a la composición tan compleja de la planta. Por lo tanto se eligieron los excipientes que presentaron menor interacción en las pruebas de compatibilidad, como se mostró en las tablas 7 y 8, así como en las figuras del apéndice III, donde los termogramas realizados demostraron que los excipientes que interaccionaron con la hoja pulverizada presentaron un cambio notable en el rango de temperaturas de 150 °C a 190 °C y los que interaccionaron demasiado mostraron un cambio en todo el termograma.

ESTUDIO DE INTERACCIÓN DE LOS EXCIPIENTES Y LAS HOJAS PULVERIZADAS DE *Tanacetum parthenium*, TABLAS 7 Y 8.

TABLA 7. Evaluación por apariencia física de las hojas pulverizadas de *Tanacetum parthenium* (Cambio de color, aspecto y olor).

EXCIPIENTE	40 °C		40 °C con H. R 90 %		50 °C		60 °C	
	Hoja seca pulverizada	-	-	-	-	-	-	-
Lactosa monohidratada	-	-	+	+	+	+	+	+
Celulosa microcristalina 100	-	-	+	+	+	+	+	+
Celulosa microcristalina 200	-	-	+	+	-	-	+	+
Fosfato de calcio dibásico	++	++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Estearato de magnesio	-	-	+	+	-	-	+	+
Aerosil	-	-	+	+	-	-	+	+
Glicolato sódico de almidón	-	-	-	-	+	+	+	+
Lactosa anhidra	+	+	++	++	+	+	++	++
Plasdone	+	+	++	++	+	+	++	++

TABLA 8. Cambios observables de los máximos de absorbancia de la mezcla de excipiente-hoja, comparado con el máximo de absorbancia del extracto metanólico de las hojas de *Tanacetum parthenium*.

EXCIPIENTE	40 °C		40 °C con H. R 90%		50 °C		60 °C	
	Hoja seca pulverizada	-	-	-	-	-	-	-
Lactosa monohidratada	-	-	++	++	+	+	++	++
Celulosa microcristalina 100	+	+	++	++	+	+	++	++
Celulosa microcristalina 200	+	+	+	+	+	+	++	++
Fosfato de calcio dibásico	+	+	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Estearato de magnesio	-	-	++	++	-	-	++	++
Aerosil	-	-	++	++	-	-	++	++
Glicolato sódico de almidón	+	+	+	+	+	+	++	++
Lactosa anhidra	+++	+++	++++	++++	+++	+++	++++	++++
Plasdone	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

(-) Sin Cambio. (+) Cambio tenue. (++) Cambio notable, (+++) Cambio muy notable, (++++) Cambio drástico

Estos resultados se confirmaron por un estudio de calorimetría diferencial como se muestra en el Apéndice III, en las Figuras 1a - 10a.

6.7 FORMULACIÓN

Tomando en cuenta que se trata de un medicamento herbolario en el cual se debe considerar la estabilidad de todos los compuestos que integran la planta, no se seleccionó un proceso de granulación por vía húmeda debido a que un exceso de humedad ejerce dos efectos negativos sobre la conservación del material vegetal: por una parte puede estimular la actividad enzimática y dar lugar así a la degradación de algunos principios activos y por otra aumenta la probabilidad de que se produzcan ataques de hongos u otros microorganismos. Por lo que es conveniente mantener un control de humedad en el material vegetal empleado.

Es importante resaltar las ventajas de la compresión directa como: a) El aspecto económico que es el más obvio, pues reduce el tiempo de proceso y los costos laborales, ya que requiere de menos etapas de manufactura y equipos, requiere de menor espacio y disminuye el consumo de energía. b) La ventaja de mayor significancia en términos de calidad de la tableta es que, el proceso no necesita de la humectación y el calor para llevar a cabo el secado de los polvos. Por lo que el proceso no afecta en la estabilidad del principio activo y no origina un riesgo de contaminación microbiana. c) El diámetro promedio de partícula menor en las mezclas para compresión directa ayuda a optimizar el tiempo de desintegración de la tableta, favoreciendo así la velocidad de disolución. Con esto, las partículas del principio activo son liberadas con mayor rapidez y se disponen por lo tanto a una mejor biodisponibilidad. Con base a lo mencionado anteriormente se consideró que el proceso de manufactura adecuado debería ser por compresión directa.

Para llegar a la formulación final establecida, se partió de una formulación proporcionada por la compañía **Helm de México S. A.**, además de considerar las pruebas de compatibilidad y la dosis de la planta de 125 mg por tableta. En el proceso de obtener la formulación final se elaboraron tres formulaciones "piloto". La formulación I no se seleccionó debido a que no alcanzaba la dosis de la hoja que era de 125 mg, además la mezcla de polvos no contaba con un buen flujo en el momento de tabletear, por lo que al plantear la formulación II se considero adicionarle un deslizante aparte del estearato de magnesio, que fue el aerosil, lo que permitió un mejor flujo, pero esta formulación tampoco fue la óptima ya que, aunque se contaba con un buen

flujo, la dosis de la hoja no era la adecuada, por lo tanto se planteó una formulación III, en donde la dosis fue la adecuada y el flujo de la mezcla fue bueno, por lo tanto se eligió esta formulación como la óptima para la elaboración de los tres lotes finales (MMAN-5, MMAN-6, MMAN-7) (Tablas 9 y 10).

Se considero un peso teórico de 300 mg \pm 5 % (285 – 315 mg) por tableta (41.66 % de hoja y 58.34 % de excipientes).

TABLA 9. Formulaciones preliminares

Ingredientes/ Formulación	I	II	III
Hoja pulverizada	106 mg	107 mg	125 mg
(Celulosa microcristalina) Helmcel 200	136 mg	132 mg	127 mg
(Lactosa monohidratada) Pharmatose DCL 11	43 mg	43 mg	30 mg
Glicolato sódico de almidón	12 mg	12 mg	12 mg
Estearato de magnesio	3 mg	3 mg	3 mg
Aerosil	-	3 mg	3 mg
Peso de la Tableta	300 mg	300 mg	300 mg

Especificaciones de la tableta

Descripción

Producto: Tabletas de *Tanacetum parthenium*

Contenido de planta 125 mg/Tableta

Tamaño de los lotes 3000 Tabletas por lote.

TABLA 10. Fórmula de la tableta final

Ingredientes	mg / Tableta
Hoja pulverizada	125 mg
(Celulosa microcristalina) Helmcel 200	127 mg
(Lactosa monohidratada) Pharmatose DCL 11	30 mg
Glicolato sódico de almidón	12 mg
Estearato de magnesio	3 mg
Aerosil	3 mg
Peso de la Tableta	300 mg

Con la finalidad de tener reproducibilidad en los datos se realizaron tres lotes MMAN-1-5, MMAN-1-6 y MMAN-1-7.

6.8 REOLOGÍA DE POLVOS DE LA MEZCLA EXCIPIENTE-PLANTA.

Los resultados obtenidos en las pruebas de reología de polvos para los tres lotes (MMAN-1-5, MMAN-1-6, MMAN-1-7), se presentan en las tablas de la 11 a la 13. Los resultados son muy similares lo cual nos indica que la metodología seguida y la elaboración de los lotes son reproducibles.

En cuanto a la apariencia, la mezcla de polvos presenta una textura suave al tacto, un color blanco-verdaceo y un olor característico.

Comparando los resultados obtenidos respecto al ángulo de reposo indican que el flujo de la mezcla de polvos es excelente (Tabla 11, 12 y 13), lo cual nos indicó que no existe una gran fricción entre las partículas de los polvos. Pero desconciertan los resultados obtenidos en el Índice de Carr e Índice de Hausner, ya que para el primer caso los resultados obtenidos para los tres lotes se encontraron dentro de la escala de flujo pobre, así como para el Índice de Hausner los valores obtenidos indicaron también un flujo no muy bueno. Lo cual puede deberse a la alta cantidad de humedad que contiene la mezcla de polvos (aproximadamente 5.2 %) y a la consistencia aceitosa que presenta la planta, lo cual complica la fluidez de esta mezcla de polvos.

Esto puede estar respaldado por la prueba de velocidad de flujo, ya que al colocar la mezcla de polvos en el embudo del flujómetro y accionarlo esta no fluyó bien y requirió de ayuda, por lo que la prueba ya no es válida y por lo tanto no se considero. Con la finalidad de conocer el flujo de la mezcla final de polvos, se realizaron pruebas ya teniendo el estearato de magnesio y el aerosil, y los resultados fueron muy diferentes, ya que con estos excipientes mejoró notablemente el flujo, obteniéndose valores de ángulo de reposo de 20, Índice de Carr 21.99 %, Índice de Hausner 1.28 y velocidad de flujo de 8.32 g/seg, que al compararlos con los límites mencionados en las tablas 11, 12 y 13, son de mayor aceptación. Estas pruebas se realizaron con la finalidad de constatar, que la mezcla de polvos final antes de tabletear si contara con un buen flujo, que facilitara el tableteado.

En las Tablas 11, 12 y 13 se puede apreciar los resultados obtenidos, así como en las gráficas 3, 4 y 5, se puede apreciar la compactación de la mezcla de polvos, la cual se mantiene constante después de los 60 golpes.

TABLA 11. Reología de la mezcla de polvos del lote MMAN-1-5

PRUEBA	LIMITE	RESULTADO Sin aerosil y estearato de magnesio	RESULTADO Con aerosil y estearato de magnesio
Apariencia	Polvo fino de color blanco-verdaceo, de consistencia suave al tacto	Mezcla de polvos fina de color blanco-verdaceo	-----
Perdida al secado %	Alrededor del 10%	5.2 %	-----
Densidad aparente (Da, g/mL)	No especificado	0.388 g/mL	0.480 g/mL
Densidad compactada (Dc, g/mL)	No especificado	0.554 g/mL	0.615 g/mL
Angulo de reposo (a)	Ang. de reposo < 25 25-30 30-40 > 40	Flujo Excelente Bueno Regular Pobre	Cilindro 24.40 20
Velocidad de flujo (VF, g/seg)	No especificado	No se determino	8.32 g/seg
Indice de Carr (% de compresibilidad)	% Compresibilidad 12-16 18-21 23-35 33-38	Flujo Buena Regular Pobre Muy pobre	29.96 % 21.99 %
Indice de Hausner	Valores < 1.25 indican buen flujo Valores > 1.5 indican pobre flujo	1.43	1.28

Cada valor representa el promedio de 6 repeticiones

TABLA 12. Reología de la mezcla de polvos del lote MMAN-1-6

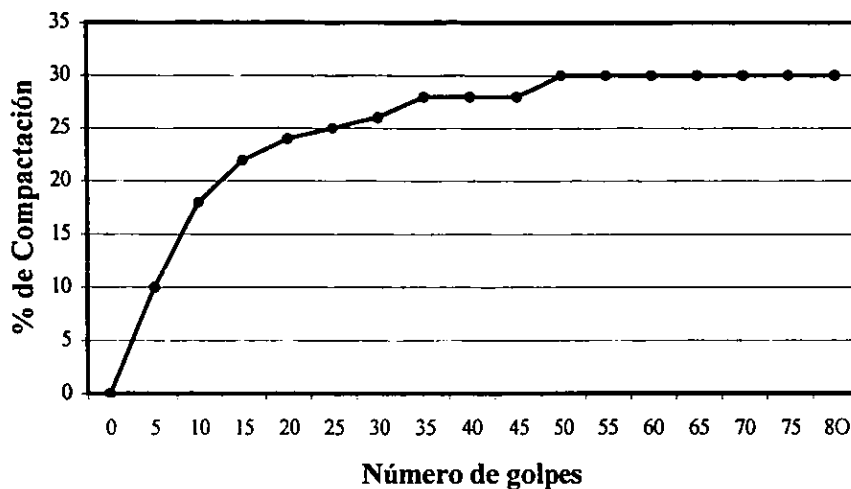
PRUEBA	LIMITE	RESULTADO Sin aerosil y estearato de magnesio	RESULTADO Con aerosil y estearato de magnesio
Apariencia	Polvo fino de color blanco-verdaceo, de consistencia suave al tacto	Mezcla de polvos fina de color blanco-verdaceo	-----
Perdida al secado %	Alrededor de 10%	6.0 %	-----
Densidad aparente (Da, g/mL)	No especificado	0.385 g/mL	0.480 g/mL
Densidad compactada (Dc, g/mL)	No especificado	0.566 g/mL	0.615 g/mL
Angulo de reposo (a)	Ang. de reposo < 25 25-30 30-40 > 40	Flujo Excelente Bueno Regular Pobre	Cilindro 24.26 20
Velocidad de flujo (VF, g/seg)	No especificado	No se determino	8.32 g/seg
Indice de Carr (% de compresibilidad)	% Compresibilidad 12-16 18-21 23-35 33-38	Flujo Buena Regular Pobre Muy pobre	31.98 % 21.99 %
Indice de Hausner	Valores < 1.25 indican buen flujo Valores > 1.5 indican pobre flujo	1.47	1.28

Cada valor representa el promedio de 6 repeticiones

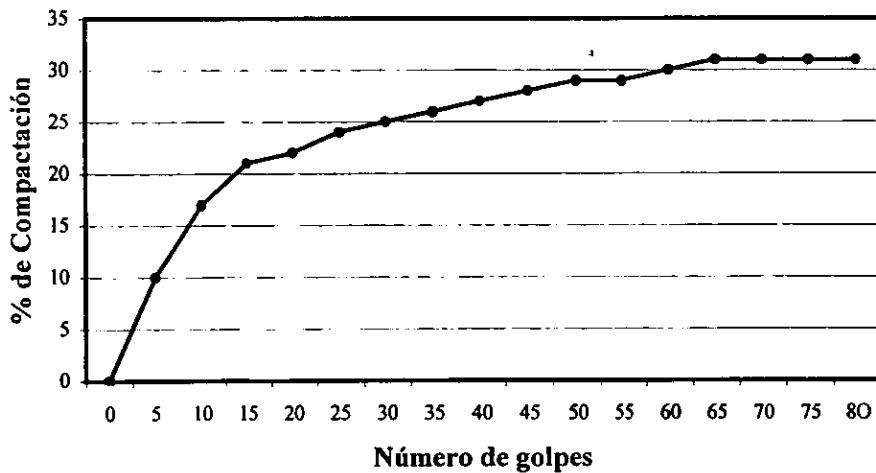
TABLA 13. Reología de la mezcla de polvos del lote MMAN-1-7.

PRUEBA	LIMITE	RESULTADO Sin aerosil y estearato de magnesio	RESULTADO Con aerosil y estearato de magnesio
Apariencia	Polvo fino de color blanco-verdaceo. de consistencia suave al tacto.	Mezcla de polvos fina de color blanco-verdaceo	-----
Perdida al secado (%)	Alrededor de 10%	5.2 %	-----
Densidad aparente (Da, g/mL)	No especificado	0.386 g/mL	0.480 g/mL
Densidad compactada (Dc, g/mL)	No especificado	0.567 g/mL	0.615 g/mL
Angulo de reposo (a)	Ang. de reposo < 25 25-30 30-40 > 40	Flujo Excelente Bueno Regular Pobre	Cilindro 22.50 20
Velocidad de flujo (VF, g/seg)	No especificado	No se determino	8.32 g/seg
Indice de Carr (% de compresibilidad)	% Compresibilidad 12-16 18-21 23-35 33-38	Flujo Buena Regular Pobre Muy pobre	31.92 % 21.99 %
Indice de Hausner	Valores < 1.25 indican buen flujo Valores > 1.5 indican pobre flujo	1.47	1.28

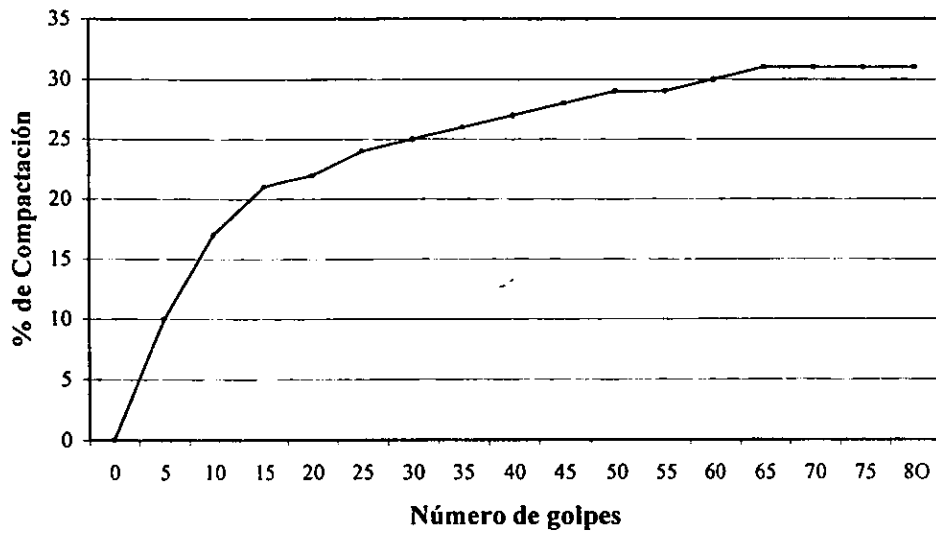
Cada valor representa el promedio de 6 repeticiones



Gráfica 3. Por ciento de compactación de la mezcla de polvos, lote MMAN-1-5



Gráfica 4. Por ciento de compactación de la mezcla de polvos, lote MMAN-1-6



Gráfica 5. Por ciento de compactación de la mezcla de polvos, lote MMAN-1-7

6.9 ELABORACIÓN DE LAS TABLETAS POR COMPRESIÓN DIRECTA DE LAS HOJAS DE *Tanacetum parthenium*.

Después de la elaboración de las tabletas, siguiendo su control de proceso y realizando las pruebas finales a las tabletas (no recubiertas), como se muestra en las tablas 14, 15, 17, 18, 20 y 21, se procedió a recubrir las tabletas con la finalidad de enmascarar propiedades como el olor y sabor de la planta. No se le dio un color a la tableta ya que esa no era la finalidad, además se quería conservar el aspecto físico que tiene. La tableta se recubrió con una capa incolora compuesta por **Eudragit E 12.5**, talco y alcohol isopropílico, el recubrimiento no altera a la tableta químicamente, sólo modificó el por ciento de friabilidad y el tiempo de desintegración de las pruebas de control realizadas a las tabletas como se observa en las tablas 15, 16, 18, 19, 21 y 22, donde se tiene que las tabletas en los tres lotes se encontraron dentro de especificaciones. En las pruebas de friabilidad y desintegración las diferencias en los resultados eran de esperarse, ya que las tabletas al ser recubiertas, además de enmascarar el olor y sabor de la planta como ya se menciono anteriormente, también el recubrimiento ayuda a evitar el deterioro de la tableta (su desgaste) y al recubrir la tableta el tiempo de desintegración aumenta, pero sin rebasar el límite establecido (30 minutos). Se tiene que los resultados son reproducibles para los tres lotes.

Al analizar los resultados de microbiología de UFC, se encontró que la cuenta microbiana para bacterias en los tres lotes fue muy elevada alrededor de 1×10^5 UFC por tableta, las colonias se contaron después de mantenerlas en incubación a 35 °C – 37 °C por 48 horas. Resultados muy diferentes se presentaron para la prueba de hongos ya que no se observo crecimiento alguno después de mantenerlas en incubación por una semana a 22.5 °C \pm 2.5 °C. No solo por los resultados expuestos anteriormente, si no además porque es una práctica común en este tipo de formulaciones la sanitización por diferentes medios dependiendo de la composición química del material vegetal empleado como materia prima, se recomienda este proceso para esta formulación, con la finalidad de obtener un producto confiable para el público.

PRUEBAS DEL CONTROL DE PROCESO, A GRANEL Y FINALES REALIZADAS A LAS TABLETAS DE *Tanacetum parthenium*

A continuación se presentan los resultados para los tres lotes obtenidos en las pruebas del control del proceso, a los diferentes tiempos en que se tomaron las muestras; así como los resultados de las pruebas de control de calidad realizadas a las tabletas antes y después de recubrir.

TABLA 14. Control del proceso lote MMAN-1-5

PRUEBA / TIEMPO	Cero minutos	3 minutos	6 minutos	9 minutos	12 minutos	15 minutos
Dureza (Kg)	5.4	4.8	5.0	5.0	4.5	4.2
Variación de peso (mg)	302	300	303	301	300	295
Friabilidad (%)	0.40	0.53	0.52	0.60	0.42	0.60
Desintegración (min. y seg.)	2'	3'	2'	2'	2'	1' 30''

Cada valor representa el promedio de 6 repeticiones

TABLA 15. Tabletillas sin recubrir lote MMAN-1-5

PRUEBA	LIMITE	RESULTADO
Variación de peso (mg)	285-315 mg	298 mg
Dureza (Kg)	4-10 Kg	5.6 Kg
Friabilidad (%)	≤ 1 %	0.39 %
Desintegración (minutos y segundos)	≤ 30 minutos	2' 33''

Cada valor representa el promedio de 6 repeticiones

TABLA 16. Tabletillas recubiertas lote MMAN-1-5.

PRUEBA	LIMITE	RESULTADO
Apariencia	Tableta cóncava, lisa de color blanco-verdaceo	Tableta cóncava, lisa de color blanco-verdaceo
Variación de peso (mg)	285-315 mg	285-315 mg
Peso promedio (mg)	300 mg	300 mg
Dureza (Kg)	4-10 Kg	4.7 Kg
Friabilidad (%)	≤ 1 %	0.11 %
Desintegración (minutos y segundos)	≤ 30 minutos	13'
Perdida al secado (%)	≤ 10%	4.7 %
Uniformidad de dosis (referente al contenido de la hoja)	85-115 %	100.70 %
Bacterias aerobias totales	≤ 100 UFC/tableta	4.12x10 ⁵ UFC/tableta
Hongos y levaduras	≤ 10 UFC/tableta	≤ 10 UFC/tableta

Cada valor representa el promedio de 6 repeticiones

TABLA 17. Control del proceso lote MMAN-1-6

PRUEBA / TIEMPO	Cero minutos	3 minutos	6 minutos	9 minutos	12 minutos	15 minutos
Dureza	4.4	4.4	4.6	5.2	6.0	4.8
Variación de peso (mg)	292	293	296	297	309	299
Friabilidad (%)	0.47	0.48	0.41	0.47	0.26	0.40
Desintegración (min. y seg.)	2'	1' 30''	1' 30''	1' 30''	3' 30''	2' 30''

Cada valor representa el promedio de 6 repeticiones

TABLA 18. Tabletas sin recubrir lote MMAN-1-6

PRUEBA	LIMITE	RESULTADO
Variación de peso (mg)	285-315 mg	296 mg
Dureza (Kg)	4-10 Kg	4.9 Kg
Friabilidad (%)	≤ 1 %	0.33 %
Desintegración (minutos y segundos)	≤ 30 minutos	2' 43''

Cada valor representa el promedio de 6 repeticiones

TABLA 19. Tabletas recubiertas lote MMAN-1-6

PRUEBA	LIMITE	RESULTADO
Apariencia	Tableta cóncava, lisa de color blanco-verdaceo	Tableta cóncava, lisa de color blanco-verdaceo
Variación de peso (mg)	285-315 mg	285-315 mg
Peso promedio (mg)	300 mg	300 mg
Dureza (Kg)	4-10 Kg	5.0 Kg
Friabilidad (%)	≤ 1 %	0.07
Desintegración (minutos y segundos)	≤ 30 minutos	9' 7''
Perdida al secado (%)	≤ 10%	5.1%
Uniformidad de dosis (referente al contenido de la hoja)	85-115%	104.7%
Bacterias aerobias	≤ 100 UFC/tableta	1.92 x 10 ⁵ UFC/tableta
Hongos y levaduras	≤ 10 UFC/tableta	≤ 10 UFC/tableta

Cada valor representa el promedio de 6 repeticiones

TABLA 20. Control del proceso lote MMAN-1-7

PRUEBA / TIEMPO	Cero minutos	3 minutos	6 minutos	9 minutos	12 minutos	15 minutos
Dureza (Kg)	5.8	6.3	5.7	5.7	5.8	5.5
Variación de peso (mg)	297	305	297	300	292	294
Friabilidad (%)	0.26	0.33	0.30	0.34	0.28	0.38
Desintegración (min. y seg.)	2'	2' 30''	2'	2'	2'	2'

Cada valor representa el promedio de 6 repeticiones

TABLA 21. Tabletas sin recubrir lote MMAN-1-7

PRUEBA	LIMITE	RESULTADO
Variación de peso (mg)	285-315 mg	295 mg
Dureza (Kg)	4-10 Kg	6.3 Kg
Friabilidad (%)	≤ 1 %	0.58%
Desintegración (minutos y segundos)	≤ 30 minutos	2' 33''

Cada valor representa el promedio de 6 repeticiones

TABLA 22. Tabletas recubiertas lote MMAN-1-7

PRUEBA	LIMITE	RESULTADO
Apariencia	Tableta cóncava, lisa de color blanco-verdaceo	Tableta cóncava, lisa de color blanco-verdaceo
Variación de peso (mg)	285-315 mg	285-315 mg
Peso promedio (mg)	300 mg	300 mg
Dureza (Kg)	4-10 Kg	6.2 Kg
Friabilidad (%)	≤ 1 %	0.11 %
Desintegración (minutos y segundos)	≤ 30 minutos	10' 33''
Perdida al secado (%)	≤ 10 %	5.5 %
Uniformidad de dosis (referente al contenido de la hoja)	85-115 %	106.5 %
Bacterias aerobias	≤ 100 UFC/tableta	2.18 x 10 ⁵ UFC/tableta
Hongos y levaduras	≤ 10 UFC/tableta	≤ 10 UFC/tableta

Cada valor representa el promedio de 6 repeticiones

DATOS FARMACOTÉCNICOS DE LA ELABORACIÓN DE TABLETAS, POR COMPRESIÓN DIRECTA DE *Tanacetum parthenium*.

Reología de la mezcla de polvos.

Apariencia. Mezcla de polvos fina, de textura suave al tacto, de color blanco-verdaceo, olor característico y libre de partículas extrañas.

Perdida al secado. 5.5 %

Densidad aparente. 0.386 g/mL

Densidad compactada. 0.562 g/mL

Angulo de reposo. 23.72

Indice de Carr. 31.29 %

Indice de Hausner. 1.46

Pruebas para las tabletas

Apariencia. Tableta concava, de 9 mm de diametro, de superficie lisa y de color blanco-verdaceo.

Peso promedio. 300 mg

Variación de peso. 285-315 mg

Dureza. 5.3 Kg

Friabilidad. 0.10 %

Tiempo de Desintegración. 10' 30''

Perdida al secado. 5.1%

Uniformidad de dosis. 104 %

Bacterias aerobias. 2.74×10^5 UFC/tableta

Hongos y levaduras. $10 \leq$ UFC/tableta

7. CONCLUSIONES

Las conclusiones que se derivan de este estudio son las siguientes:

- La planta *Tanacetum parthenium* cultivada en México, presenta actividad vasorelajante *in vitro* a pesar de no contener partenólida. lo cual indica que esta actividad puede deberse a la presencia de otros componentes presentes en la planta.
- Siguiendo los métodos recomendados por la OMS para el análisis de plantas medicinales se elaboró una propuesta de monografía que incluye los controles de calidad de las hojas de *Tanacetum parthenium* cultivada en México.
- Se elaboró una formulación de tabletas de *Tanacetum parthenium* por compresión directa, empleando las hojas de *Tanacetum parthenium* cultivada en México, que cumplen con la calidad requerida para la elaboración de un medicamento herbolario. Esta formulación puede ser la base para la elaboración a nivel industrial de tabletas de *Tanacetum parthenium*, empleando materia prima nacional.

8. PERSPECTIVAS

- Realizar el fraccionamiento biodirigido del extracto activo de la hoja de *Tanacetum parthenium* cultivada en México, con el fin de conocer los metabolitos responsables de la actividad de la planta. Dado que la planta cultivada en México presentó actividad vasorelajante como se demostró en el bioensayo preliminar.
- Una vez conocidos los metabolitos responsables de la actividad, estos se pueden emplear para estandarizar una técnica analítica que sirvan de referencia como parte del control de calidad, en cuanto a la presencia de estos compuestos encontrados en la planta de *Tanacetum parthenium* cultivada en México.
- Realizar el control de calidad del material vegetal a un número mayor de muestras, considerando diferentes lugares de recolecta, así como diferentes épocas del año. Con la finalidad de tener un mayor número de datos y poder establecer límites en cuanto a las pruebas de control de calidad realizadas al material vegetal para la planta de *Tanacetum parthenium* cultivada en México.
- Con la finalidad de tener un estudio completo de las tabletas de las hojas de *Tanacetum parthenium*, se recomienda realizar los estudios de estabilidad a diferentes temperaturas, como lo menciona la NOM de Estabilidad.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre, H. (1993). La herbolaria y la medicina tradicional mexicana en torno a la formación de recursos humanos para la salud. La Investigación científica de la herbolaria medicinal mexicana. Publicación de la Secretaria de Salud. México p.p. 233-246
- Akerele, O. (1992). WHO Guidelines for the assessment of herbal medicines. *Fitoterapia* LXIII p.p. 99-110.
- Argueta, A. V., Cano, L. M. y Rodarte, M. E. (1981). Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. Vol. I Instituto Nacional Indigenista. Primera Edición. México. p.p. 1273-1275.
- Angberg M., Nystrom C and Castensson S. (1990). Evaluation of heat-conduction microcalorimetry in pharmaceutical stability studies (II) Methods to evaluate the microcalorimetric response. *International Journal of Pharmaceutics* 61 p.p. 67-77.
- Artiges, A. (1991). What are the legal requirements for the use of phytopharmaceutica drug in France. *Journal of Ethnopharmacology* 32 p.p. 231-234.
- Awang, D. V. C., Dawson, B. A., Kindact, D. G. (1991). Parthenolide content of feverfew (*Tanacetum parthenium*) Assessed by HPLC on H-NMR Spectroscopy. *Journal of Natural Products* Vol. 54 No. 6 p.p. 1516-1521.
- Banker G. S and Anderson N. R. (1988). Tablets. The theory and practice of Industrial pharmacy. Lea and Febiger. Lachman and Lieberman. Philadelphia Pa. Cap. 11
- Banthorpe. D. V. and Brown, G. D. (1989). Two Unexpected coumarin derivatives from tissue cultures of compositae species. *Phytochemistry* Vol. 28 No. 11 p.p. 3003-3007.
- Barsby, R. W. J., Salan, U., Knight, D. W., Hoult, J. R. S. (1992). Feverfew extracts and parthenolide irreversibly inhibit vascular responses of the rabbit aorta. *Journal Pharmacy and Pharmacology* 44 p.p. 737-740.
- Barsby, R. W. J., Knight, D. W. And McFadzean I. (1993). A Chloroform Extract of the Herb Feverfew Blocks Voltage-dependent Potassium Currents Recorded from Single Smooth Muscle Cells. *Journal Pharmacy and Pharmacology* 45 p.p. 641-645.

- Barsby, R. W. J., Salan, U., Knight, D. W., Hout, J. R. S. (1993). Feverfew and Vascular Smooth Muscle: Extracts from fresh and dried plants show opposing pharmacological profiles, depend upon sesquiterpene lactone content. *Planta Medica* 59 p.p. 20-25.
- Bauer, R. (1998). Quality criteria and standardization of phytopharmaceuticals can acceptable drug standards be achieved?. *Drug Information Journal* 32 p.p. 101-110.
- Beckett, B. E. (1990). Contemporary Management of Migraine Part I. *American Pharmacy* No. 3 p.p. 51-56.
- Beckett, B. E. (1990). Contemporary Management of Migraine Part II. *American Pharmacy* No. 4 p.p. 42-45.
- Begley, M. J., Hewlett, M. J., Knight, D. W. (1989). Revised structures for Guaianolide α -Methylene butyrolactones from feverfew. *Phytochemistry* Vol. 28 No. 3 p.p. 940-943.
- Bohlman, F. and Zdero, C. (1982). Sesquiterpene lactones and other constituents from *Tanacetum parthenium*. *Phytochemistry* Vol. 21 No. 10 p.p. 2543-2549.
- Bonati, A. (1991) How and why should we standardize phytopharmaceutical drugs for clinical validation?. *Journal of Ethnopharmacology* 32 p.p. 195-197.
- Brown, M. G. A., Edwards, M. C., Dovey, R. M., Power, J. B., Low, C. K. (1997). Pharmacological Activity of feverfew (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz-Bip): Assessment by inhibition of human polymorphonuclear leukocyte chemiluminescence in vitro. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 49 p.p. 558-561.
- Brown, M. G. A., Edwards, M. C., Davey, R. M., Power, J. B., Lowe, C. K. (1997). Effects of extracts of *Tanacetum* Species on Human Polymorphonuclear Leucocyte, activity in vitro. *Phytotherapy Research* Vol. 11 p.p. 479-487.
- Bye, R., Linares, E. and Estrada, E. (1995) In phytochemistry of medicinal plants. Recent advances in phytochemistry. 29. Arnason, J. T., Romeo, J. T., and Mata, R. Editores Plenum Press, Nueva York p.p. 65-82.
- Capasso, F. (1986). The effect of an aqueous extract of *Tanacetum parthenium* L. On arachidonic acid metabolism by rat peritoneal leucocytes. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 38 p.p. 71-72.

- Carr, R. L. (1965). Classifying flow properties of solids. *Chemical Engineering* 1 p.p. 69-72.
- Carr, R. L. (1965). Evaluating flow properties of solids. *Chemical Engineering* 18 p.p. 163-168.
- Colombo, B. M. (1976). Control of Physical properties in pharmaceuticals forms. Editorial Médico Farmaceutica. Primera Edition p.p. 159-163, 179, 182-183.
- Collier, H. O. J., Butt, M., McDonald-Gibson, W. J. Y Saeed, S. A. (1980) Extract of feverfew inhibits prostaglandins biosynthesis. *The Lancet* p.p. 922-923.
- Collins, C. H. y Lyne, P. M. (1989). Recuento de microorganismos. En métodos microbiológicos. Editorial Acribia, Zaragoza, España p.p. 149-164.
- Dolman, D. M., Knigh, D. W., Salan, U., Toplis, D. (1992). A Quantitative Method for the Estimation of parthenolide and Other sesquiterpene lactones containing α -methylenebutyrolactonas present in feverfew, *Tanacetum parthenium*. *Phytochemical Analisis* Vol. 3 p.p. 226-231.
- Elisabetsky, E. (1991). Sociopolitical, economical and ethical issues in medicinal plant research. *Journal of Ethnopharmacology* 32 p.p. 235-239.
- Escamilla, C., Ugalde, M., Navarrete, A. (1995). Control de Calidad de los medicamentos herbolarios, en E Estrada ed. Lecturas para el diplomado internacional de plantas medicinales de México Segunda Edición Chapingo México p.p. 547-559.
- Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (1998). Sexta Edición. Segundo Suplemento. Secretaria de Salubridad. México.
- Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (2000). Séptima Edición. Secretaria de Salubridad. México.
- Finegold, M. S. And Baron, J. E. (1989). Diagnóstico Microbiológico. Séptima Edición. Editorial Médica panamericana p.p. 374-407
- Groenewegen, W. A., Knigh, D. W., Heptinstall, S. (1986) Compounds extracted from feverfew that heve anti-secretory activity contain an α -methylene butyrolactone unit. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 38 p.p. 709-712.
- Hay, A.J.B., Hamburger, M., Hostettmann, K., Hoult, J.R.S. (1994). Toxic inhibition of smooth muscle contractility by plant-derived sesquiterpenes caused by their chemically reactive α -methylenebutyrolactone functions. *Pharmacology* 112 p.p. 9-12.

- Hayes, N. A. and Foreman J. C. (1987). The activity of compounds extracted from feverfew on histamine release from rat mast cells. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **39** p.p. 466-470.
- Heptinstall, S., Awang, D. V. C., Dawson, B. A., Kindack, D., Knight, D. W., May, J. (1992) Parthenolide Content and Bioactivity of feverfew (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz-Bip) Estimation of Commercial and Authenticated Feverfew products. *Journal Pharmacy and Pharmacology* **44** p.p. 391-395.
- Heptinstall, S., Groenewegen, W. A., Spangenberg, P., Loesche, W. (1987). Extract of feverfew may inhibit platelet behaviour via neutralization of sulphhydryl groups. *Journal Pharmacy and Pharmacology* **39** p.p. 459-465.
- Heptinstall, S., White, A., Williamson, L., Mitchell, J.R.A. (1985). Extracts of feverfew inhibit granule secretion in blood platelets and polymorphonuclear leucocytes. *The Lancet* p.p. 1071-1073.
- Herout, V., Soucek, M., Sorm, F. (1959). Parthenolide, another sesquiterpene lactone with a ten-membered ring. *Chemistry and Industry* p.p. 1069-1070.
- Hwang, D., Fischer, N.H., Jang, B. C., Tak, H., Kim, J.K., Lee, W. (1996). Inhibition of the Expression of Inducible Cyclooxygenase and Proinflammatory Cytokines by Sesquiterpene Lactones in Macrophages Correlates with the inhibition of MAP Kinases. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **226** p.p. 810-818.
- Herout, V., Soucek, M., Sorm, F. (1959). Parthenolide, another sesquiterpenic lactone with a ten-membered ring. *Chemistry and industry* p.p. 1069,1070.
- Información técnica. (1982). *Food and Pharmaceutical products*. Division FMC. Corporation. Sección 2, 3, 4 y 5.
- Johnson, E. S., Kadan, N. P., Hylands, P. J. (1985). Efficacy of feverfew as prophylactic treatment of migraine. *Br. Med. J.* **291** p.p. 569-573.
- Keller, K. (1991). Legal requirements for the use of phytopharmaceutical drugs in the Federal Republic of Germany. *Journal of Ethnopharmacology* **32** p.p. 225-229.
- King R. E. and Schwartz J. B. (1995). Formas farmacéuticas sólidas orales. Remington. Farmacia 19ª. Edición. Editorial Médica Paramericana. Madrid España.

- Kisiel, W. and Stojakowska, A. (1997). A sesquiterpene coumarin ether from transformed roots of *Tanacetum parthenium*. *Phytochemistry* Vol. 46 No. 3 p.p. 515-516.
- Knight, D.W. (1995). Feverfew: Chemistry and Biological Activity. *Natural Product Reports* 12 p.p. 271-276.
- Koneman, E. W., Allen, S. D., Dowell, V. R., Janda, W. M., Sommers, H. M., Winn, W. C. (1992). Diagnóstico microbiológico. Tercera edición. Editorial medica panamericana
- Kostenbauder, H. H., PhD. (1975) Reaction Kinetics. Pharmaceutical Sciences. Remington's. Editorial Board members. Managing Editor Hoover J. K., Fifteenth Edition. Mack Publishing Company. Easton, Pennsylvania p.p. 283-284.
- Loew, D. (1997). Is the biopharmaceutical quality of extracts adequate for clinical pharmacology?. *International Journal of Clinical pharmacology and Therapeutics* Vol. 35 No. 7 p.p. 302-306.
- Lozoya, X. (1997) Fármacos de origen vegetal de ayer y de hoy. *Investigación y Ciencia* p.p. 4-10.
- Lozoya, X. (1993) Función de las plantas medicinales en la medicina del siglo XXI. La investigación científica de la herbolaria medicinal mexicana. Publicación de la Secretaria de Salud. México p.p. 255-270.
- Mac Fadin, F. J. (1991) Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Segunda edición. Editorial Médico panamericana.
- Makheda, A. N. And Bailey, J. M. (1981). The active principle of feverfew. *The Lancet* p.p. 1054
- Marles, J. R., Kaminski, J., Arnason, T. J. (1992) A Bioassay for inhibition of serotonin release from Bovine platelets. *Journal of Natural Products* Vol.55 No.8 p.p. 1044-1056.
- Meckes, M. (1993). Introducción. La Investigación Científica de la Herbolaria Medicinal mexicana. Publicación de la Secretaria de Salud. México p.p. 69-73.
- Meckes, M., Tortoriello, J., Villareal, M. L. (1993). Investigación Farmacológica de Plantas Medicinales. La Investigación Científica de la Herbolaria Medicinal Mexicana. Publicación de la Secretaria de Salud. México p.p. 157-167
- Milbrodt, M., Schroder, F., König, W. A. (1997). 3, 4- β -epoxy-8-deoxycumambrin B, a sesquiterpene lactone from *Tanacetum parthenium*. *Phytochemistry* Vol. 44 No. 3 p.p. 471-474.

- Murphy, J. J., Heptinstall, S., Mitchell, J. R. A. (1988). Randomized double blind placebo-controlled trial of feverfew in migraine prevention. *The lancet* p.p.189-192.
- Navarrete, A. (1996). La farmacología clave para el desarrollo de medicamentos herbolarios. Laboratorio de Productos Naturales. Universidad Autónoma Chapingo p.p. 1-15
- O'Connor R. E., Rippie E. G and Schwartz J. B. (1995). Polvos. Remington, Farmacia. 19ª Edición. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España.
- Olesen, J., Lauritzen, M., Tfelt-Hansen, P., Henriksen, L., and Larsen, B. (1982). Spreading cerebral oligemia in classical and normal cerebral blood flow in common migraine. *Headache* 22 p.p. 242-248.
- OMS. (1988). Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines. World Health Organization (WHO). Quality control methods for medicinal plant materials. Regional office for the western pacific manila.
- Palevitch, D., Earon, G., Carasso, G. (1997) Feverfew (*Tanacetum parthenium*) as a Prophylactic Treatment for migraine a Double-blind Placebo-controlled study. *Phytotherapy Research* Vol. 11 p.p. 508-511.
- Patrick, N. A.(1989) Feverfew in rheumatoid arthritis a doble blind, placebo controlled study. *Ann Rheum Dis* 48 p.p. 547.
- Peroutka, S. J. (1997). Fármacos eficaces para el tratamiento de la migraña, en Hardman, J. G., Limbird, L. E., Molinoff, P. B., Ruddon, R. W. y Gilman A. G. (Editores) Goodman & Gillman. Las Bases Farmacológicas de la terapéutica Novena Edición McGraw-Hill p.p. 521-538.
- Prance, T. G. (1991). What is Ethnobotany Today?. *Journal of Ethnopharmacology* 32 p.p. 209-216.
- Quick, A. and Rogers, D. (1976). Crystal and Molecular Structure of Parthenolide [4,5-Epoxygermacra-1(10),11(13)-dien-12,6-olactone]. *Journal Chemical Society. Perkin Trans 2* p.p. 465-469.
- Radenbaugh G. W. And Ravin L. J. (1995). Preformulación Remington. Farmacia. 19ª Edición. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España Cap. 83.
- Real Farmacopea Española (1997). Editor Disrib. Primera Edición. España, Madrid.

- Reuter, H. D. (1991). What are the possibilities and limits of therapy with European native drugs in modern clinical medicine. *Journal of Ethnopharmacology* 32 p.p. 187-193.
- Rodríguez, J., Tello, H., Quijano, L., Calderón, J., Gómez, F., Romo, J., Ríos, T. (1973). Flavonoides de Plantas Mexicanas Aislamiento y Estructura de la Santina y de la glucoferida p.p 41-53.
- Romo de Vivar, A. and Jiménez, H. (1965). Structure of Santamarine, a new sesquiterpene lactone. *Tetrahedron* Vol. 21 p.p. 1741-1745.
- Romo, J., Romo de Vivar, A., Treviño, R., Joseph-Nathan, J., Diaz, E. (1970). Constituents of artemisia and Chrysanthemum species the structures of chrysartemins A and B. *Phytochemistry* Vol. 9 p.p. 1615-1621.
- Secretaria de Salud. (1998). Diario oficial. Reglamento de insumos para la salud. Título primero. Disposiciones generales. Capítulo único.
- Shami E. G., Dudzinski J. R. And Lantz Jr. R. J. (1988). Preformulación. The theory and practice of Industrial pharmacy. Lea and Febiger. Lachman and Lieberman. Philadelphia Pa. Cap. 1.
- Soucek, M., Herout, V., Sorm, F. (1961) On terpenes. CXVIII. Constitution of parthenolide. *Coll. Czech. Chem. Commun* 26 p.p. 803-809.
- Summer, H., Salan, V., Knihth, D.W., Hout, R.S. (1992) Inhibition of 5-lipoxygenase and Cyclooxygenase in leukocytes by Feverfew. *Biochemical Pharmacology* Vol. 43 No. 11 p.p. 2313-2320.
- Trease y Evans, W. C. (1991). Comercio y Control de Calidad. Farmacognosia. Editorial McGraw-Hill. Treceava Edición. México Cap. 13 p.p. 134-143.
- Tyler, V. E. (1996). Basic Principles. Herb of choice The Therapeutic Use of Phytomedicinals Cap.1. p.p. 1-6.
- USP. (1999). United States Pharmacopeia XXIV. NF 19. The Official Compendia of Standards. US Pharmacopeia & National Formulary. Printed by National Publishing, Philadelphia, PA.
- Vadas E. B. (1995). Estabilidad de los productos farmacéuticos. Remington Farmacia 19ª Edición. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España.

- Vickers, H. R. (1985) Feverfew and migraine. *Br. Med. J.* **48** p.p. 547.
- Venkataram S., Khohlokwane M and Wallis S. H. (1995). Diferential Scanning calorimetry as a quick scanning technique for solid state stability studies. *Drug Development and Industrial pharmacy* **21** (7) p.p. 847-855.
- Voyno-Yasenetskaya, T. A., Loesche, W., Groenewegen, W. A., Heptinstall, S., Repin, V. S., Till, U. (1988). Effects of an extract of feverfew on endothelial cell integrity and on cAMP in rabbit perfused aorta. *Journal pharmacy and pharmacology* **40** p.p. 501-502.
- Wagner, H., Fessler, B., Lotter, H., Wray, V. (1988). New Chlorine-Containing Sesquiterpene Lactones from *Chrysanthemum parthenium*. *Planta Medica* **54** p.p. 171,172.
- Weber, J.T., O'Connor, M.F., Hayataka, K., Colson, N., Medora, R., Russo, E.B., Parker, P.K. (1997). Activity of Parthenolide at 5HT_{2A} Receptors. *Journal Natural Products* **60** p.p. 651-653.
- Wijsekera, R. O. B. (1991). Is there an industrial future for phytopharmaceutical drugs? An outline of UNIDO programmes in the Sector. *Journal of Ethnopharmacology* **32** p.p. 217-224.
- Wells, J. I. (1988). Pharmaceutical. Preformulation. The physicochemical properties of drugs substances. Editor Ellis Harwood books in biological sciences. Publishers Chichester Halsted Press a division of John Wiley & Sons. Cap. 7 y 8.
- Williams, C.A., Hout, J.R.S., Harborne, J.B., Greenham, J., Eagles, J. (1995). A Biologically active lipophilic flavonol from *Tanacetum parthenium*. *Phytochemistry* Vol. 38 No.1 p.p.267-270.

APÉNDICES

APÉNDICE I.

MEDIOS DE CULTIVO EMPLEADOS

Disolución tampón peptona-cloruro de sodio a pH 7.0

Dihidrógeno fosfato de potasio	3.56 g
Hidrógeno fosfato de disodio dihidratado	7.23 g
Cloruro de sodio	4.30 g
Peptona de carne o de caseína	1.0 g
Agua purificada	1000 mL

Puede añadirse de 1 g/L a 10 g/L de polisorbato 20 ó 80. Esterilizar por calentamiento en un autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

Agar de soya y caseína digeridas

Digerido pancreático de caseína	15.0 g
Digerido con papaína de harina de soya	5.0 g
Cloruro de sodio	5.0 g
Glucosa monohidrato	15.0 g
Agua purificada	1000 mL

Ajustar el pH de forma que después de la esterilización sea de 7.3 ± 0.2 . Esterilizar por calentamiento en un autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

Caldo de lactosa

Extracto de buey	3.0 g
Digerido pancreático de gelatina	5.0 g
Lactosa	5.0 g
Agua purificada	1000 mL

Ajustar el pH de forma que después de la esterilización sea de 6.9 ± 0.2 . Esterilizar por calentamiento en un autoclave a 121 °C, durante 15 minutos y enfriar inmediatamente.

Agar MacConkey

Digerido pancreático de gelatina	17.0 g
Peptonas (de carne y caseína)	3.0 g
Lactosa	10.0 g
Cloruro de sodio	5.0 g
Sales biliares	1.5 g
Agar	13.5
Rojo neutro	30 mg
Violeta cristal	1 mg
Agua purificada	1000 mL

Ajustar el pH de forma que después de la esterilización sea de 7.1 ± 0.2 . Calentar a ebullición durante 1 minuto con agitación constante, luego esterilizar por calentamiento en un autoclave a $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 15 minutos.

Agar de desoxicolato, lisina y xilosa

Xilosa	3.5 g
L-Lisina	5.0 g
Lactosa	7.5 g
Sacarosa	7.5 g
Cloruro de sodio	5.0 g
Extracto de levadura	3.0 g
Rojo de fenol	80 mg
Agar	13.5 g
Desoxicolato de sodio	2.5 g
Tiosulfato de sodio	6.8 g
Citrato de amonio y hierro (III)	0.8 g
Agua purificada	1000 mL

Ajustar el pH de forma que después del calentamiento sea de 7.4 ± 0.2 . Calentar hasta el inicio de la ebullición, enfriar a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ y transferir a placas de Petri. No calentar en autoclave.

Agar de sacarosa, lactosa, rojo fenol y verde brillante

Peptonas (de carne y caseína)	10.0 g
Extracto de levadura	3.0 g
Cloruro de sodio	5.0 g
Lactosa	10.0 g
Sacarosa	10.0g
Agar	20.0 g
Rojo de fenol	80 mg
Verde brillante	12.5 mg
Agua purificada	1000 mL

Calentar a ebullición. Ajustar el pH de forma que después de la esterilización sea de 6.9 ± 0.2 . Inmediatamente antes del uso, esterilizar por calentamiento en un autoclave a $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 15 minutos, enfriar a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ y transferir a placas de Petri.

Agar cetrimida

Digerido pancreático de gelatina	20.0 g
Cloruro de magnesio	1.4 g
Sulfato de potasio	10.0 g
Cetrimida	0.3 g
Agar	13.6 g
Agua purificada	1000 mL
Glicerol	10.0 mL

Calentar a ebullición durante 1 minuto con agitación. Ajustar el pH de forma que después de la esterilización sea de 7.2 ± 0.2 . Esterilizar por calentamiento en un autoclave a $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 15 minutos.

Agar Baird-Parker

Digerido pancreático de caseína	10.0g
Extracto de buey	5.0 g

Extracto de levadura	1.0 g
Cloruro de litio	5.0 g
Agar	20.0 g
Glicina	12.0 g
Piruvato de sodio	10.0 g
Agua purificada	950 mL

Calentar a ebullición durante 1 minuto con agitación. Ajustar el pH de forma que después de la esterilización sea de 6.8 ± 0.2 . Esterilizar por calentamiento en un autoclave a 121 °C durante 15 minutos, enfriar hasta 45 °C a 50 °C y añadir 10 mL de una disolución estéril de telurito de potasio a 10 g/L y 50 mL de emulsión de yema de huevo.

APÉNDICE II.

IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS GRAM NEGATIVO

Sistema BBLCRYSTAL E/NF ID

Se colocaron 10 g de la hoja pulverizada en 90 mL de caldo lactosa, se mezcló e incubó a 35 °C-37 °C durante 24 horas. Se tomó un inóculo y se aisló por estría cruzada en agar MacConkey, se incubó 24 horas a 35 °C-37 °C. Posteriormente se tomó una asada y se sembró en agar TSA e incubó 24 horas a 35 °C-37 °C. Se tomó un tubo de fluido de inóculo y se adicionó con ayuda de un asa plástica desechable una colonia grande y bien aislada de la placa de agar TSA. Una vez adicionada la colonia en el tubo BBLCRYSTAL de fluido de inóculo para patógenos fecales/enterobacterias, se puso en suspensión. Se tapó el tubo y agitó en un vórtex por 10-15 seg. Se tomó una base y marcó la clave de la muestra en el costado. **Se vertió todo el contenido del fluido de inóculo en el área demarcada de la base. Se tomó la base con ambas manos, balanceándola suavemente hasta que todos los pocillos se llenaron con el inóculo. Se balanceó la base nuevamente para escurrir el exceso de líquido de vuelta al área demarcada y se puso la base sobre una mesa. ***Se alineó la tapa de modo que el extremo que se encuentre con la inscripción esté sobre el área demarcada de la base. Se presionó hacia abajo hasta que se sintió una leve resistencia. Se pusieron los pulgares en el borde de la tapa de cada lado y hacia el medio del panel, y se presionó hacia abajo simultáneamente hasta que la tapa embonó en su lugar.

Incubación. Se colocó el panel inoculado en una bandeja de incubación. El panel debe de incubarse boca abajo en una incubadora sin CO₂ con 40% a 60% de humedad relativa. El tiempo de incubación para los paneles E/NF fue de 18-20 horas a una temperatura de 35 °C-37 °C.

Lectura. Después del período de incubación recomendado, se sacó el panel de la incubadora. El panel debe de leerse boca abajo usando la caja de iluminación o visor para paneles BBLCRYSTAL. Se comparó con la gráfica de reacciones de color y/o con la tabla de reactivos usados en el sistema BBLCRYSTAL E/NF ID, para la interpretación de las reacciones.

Calculo del número de perfil BBLCRYSTAL. Cada reacción positiva recibió un valor de 4, 2 ó 1, correspondiente al renglón donde se encuentre la reacción. Cada resultado negativo recibió un valor de cero. Los números (valores) resultantes de cada positivo en cada columna se suman. Se obtuvo de esta manera un número de 10 dígitos, éste es el número de perfil. El número de perfil resultante y los resultados de pruebas independientes (indol y oxidasa) se tabularon en una computadora con el libro electrónico de códigos para el sistema BBLCRYSTAL ID instalado, para poder obtener una identificación.

Nota. Antes de prepararse los paneles BBLCRYSTAL E/NF, se realizaron pruebas de indol y oxidasa a partir de una placa de medio no selectivo de menos de 24 horas. Estas pruebas se hicieron de acuerdo con las instrucciones suministradas en el prospecto incluido con estos reactivos.

* Tubos BBLCRYSTAL de fluido de inóculo para la identificación de patógenos fecales/enterobacterias. Cada tubo contiene aproximadamente $2.2 \text{ mL} \pm 0.1 \text{ mL}$ de fluido de inóculo con la siguiente fórmula: NaCl 8.50 g, ácido 3-morfolino propanosulfónico 0.8372 g, agua purificada 1000 mL.

** Bases BBLCRYSTAL

*** Tapas del panel BBLCRYSTAL E/NF

APÉNDICE III. TERMOGRAMAS

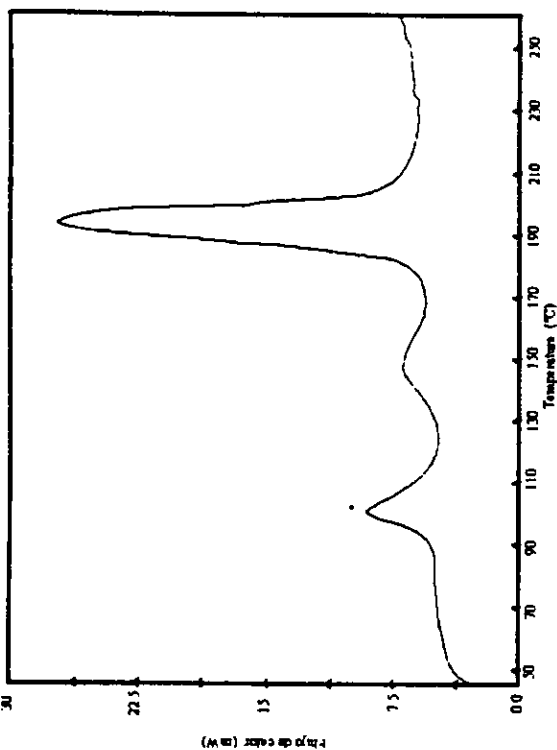


Figura 2a. Termograma de la hoja pulverizada-fosfato de calcio dibásico Equipo Perkin Elmer DSC7, flujo de nitrógeno 25 ml/min, velocidad de calentamiento 15 °C/min

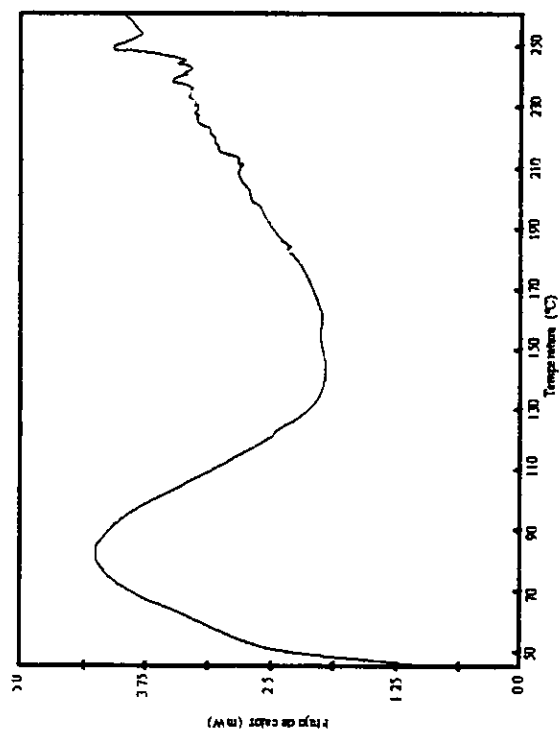


Figura 4a. Termograma de la hoja pulverizada-celulosa microcristalina (200) Equipo Perkin Elmer DSC7, flujo de nitrógeno 25 ml/min, velocidad de calentamiento 15 °C/min

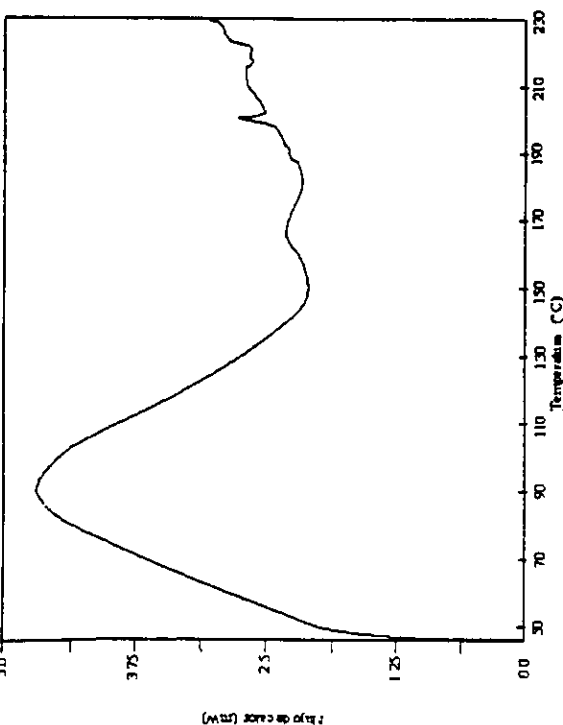


Figura 1a. Termograma de la hoja pulverizada Equipo Perkin Elmer DSC7, flujo de nitrógeno 25 ml/min, velocidad de calentamiento 15 °C/min

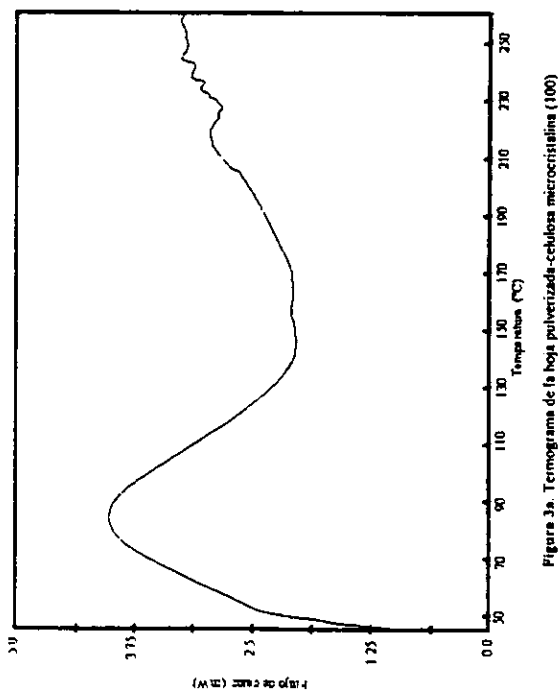


Figura 3a. Termograma de la hoja pulverizada-celulosa microcristalina (100) Equipo Perkin Elmer DSC7, flujo de nitrógeno 25 ml/min, velocidad de calentamiento 15 °C/min

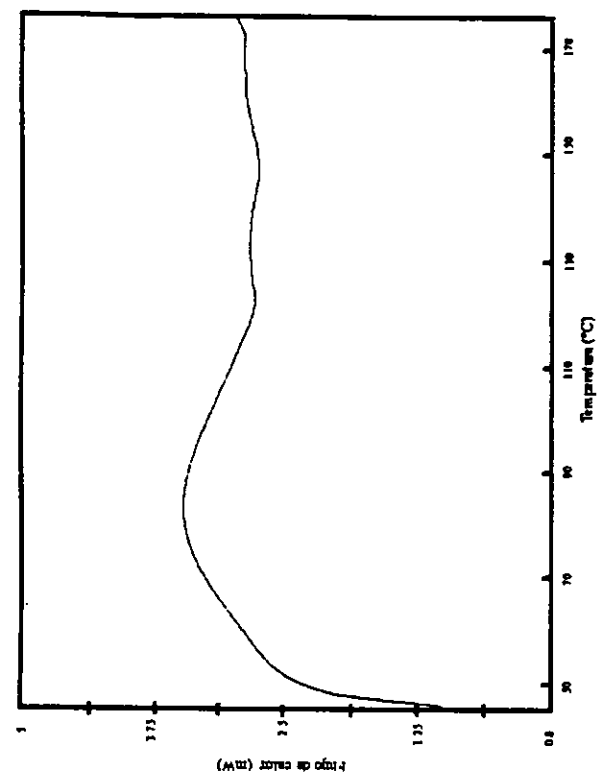


Figura 5a. Termograma de la hoja pulverizada-lactosa monohidratada. Equipo Perkin Elmer DSC7. Flujo de nitrógeno 25 ml./min. velocidad de calentamiento 15 °C/min

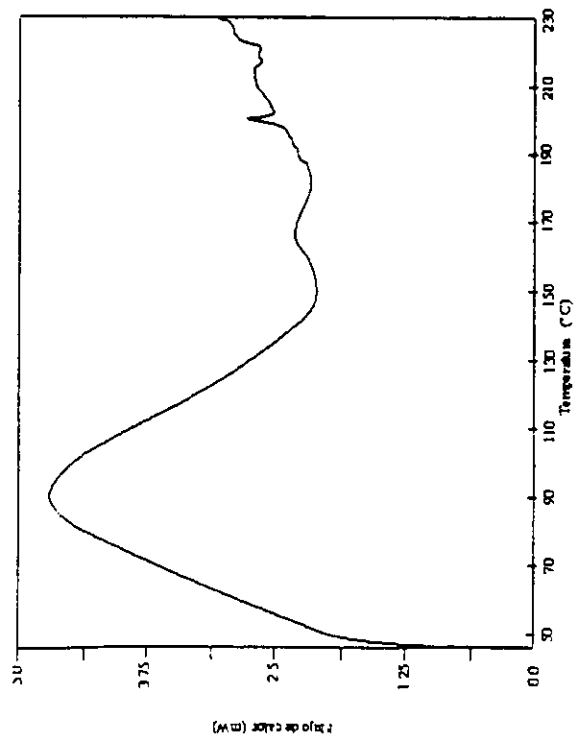


Figura 1a. Termograma de la hoja pulverizada. Equipo Perkin Elmer DSC7. Flujo de nitrógeno 25 ml./min. velocidad de calentamiento 15 °C/min

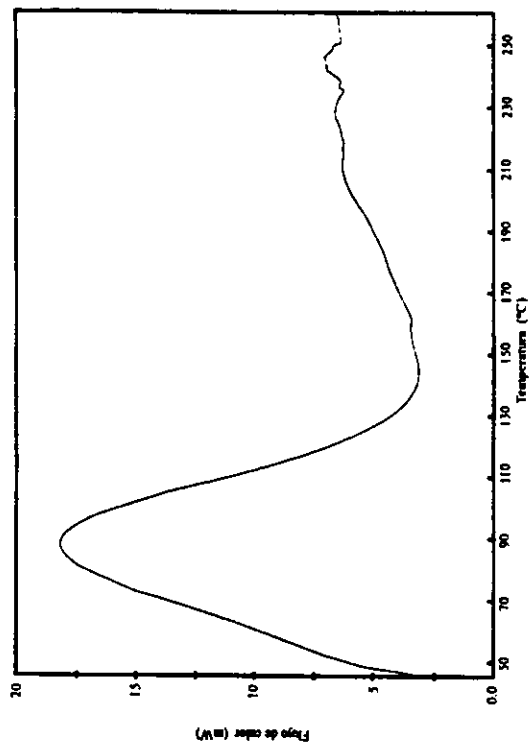


Figura 7a. Termograma de la hoja pulverizada-β-lactidone. Equipo Perkin Elmer DSC7. Flujo de nitrógeno 25 ml./min. velocidad de calentamiento 15 °C/min

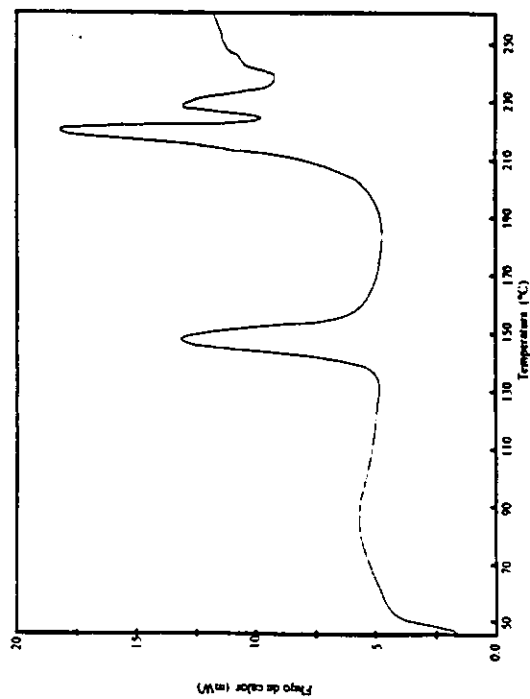


Figura 6a. Termograma de la hoja pulverizada-lactosa anhidra. Equipo Perkin Elmer DSC7. Flujo de nitrógeno 25 ml./min. velocidad de calentamiento 15 °C/min

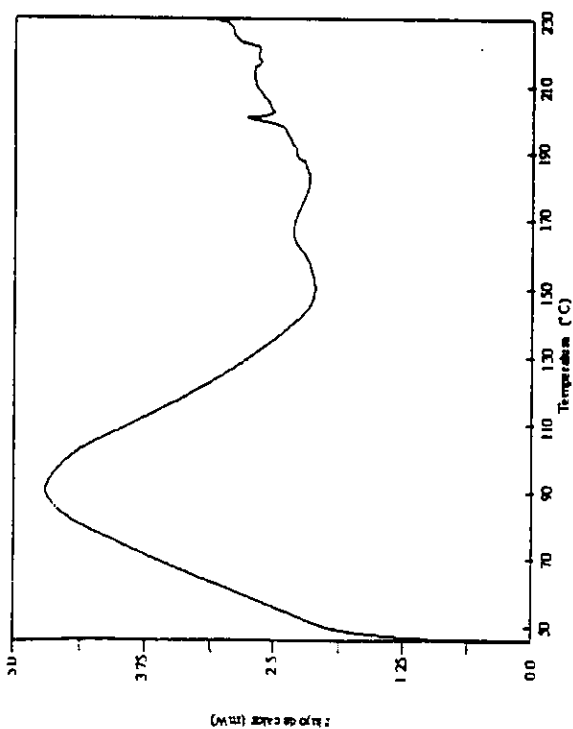


Figura 1a. Termograma de la hoja pulverizada. Equipo Perkin Elmer DSC7, flujo de nitrógeno 25 mL/min, velocidad de calentamiento 15 °C/min

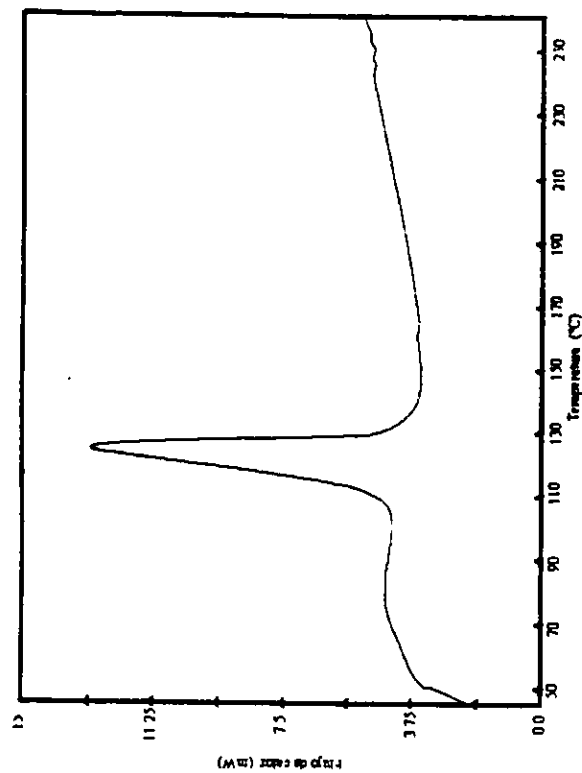


Figura 1b. Termograma de la hoja pulverizada-acetato de magnesio. Equipo Perkin Elmer DSC7, flujo de nitrógeno 25 mL/min, velocidad de calentamiento 15 °C/min

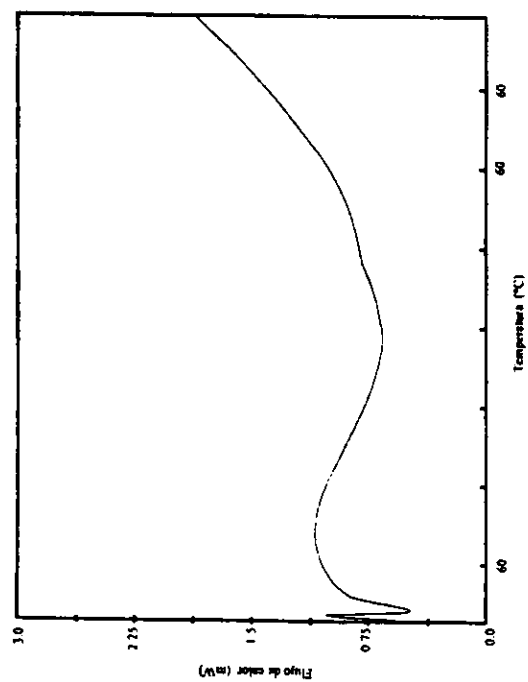


Figura 9a. Termograma de la hoja pulverizada-acetato. Equipo Perkin Elmer DSC7, flujo de nitrógeno 25 mL/min, velocidad de calentamiento 15 °C/min

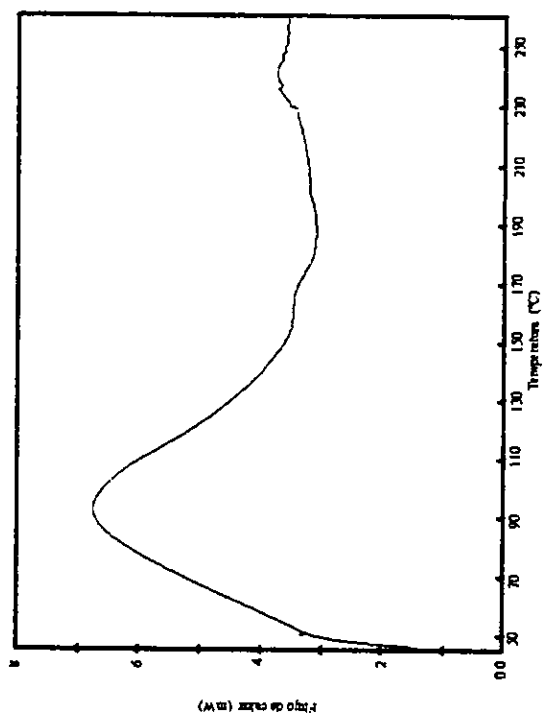
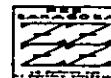


Figura 10a. Termograma de la hoja pulverizada glicolato sódico de almidón. Equipo Perkin Elmer DSC7, flujo de nitrógeno 25 mL/min, velocidad de calentamiento 15 °C/min

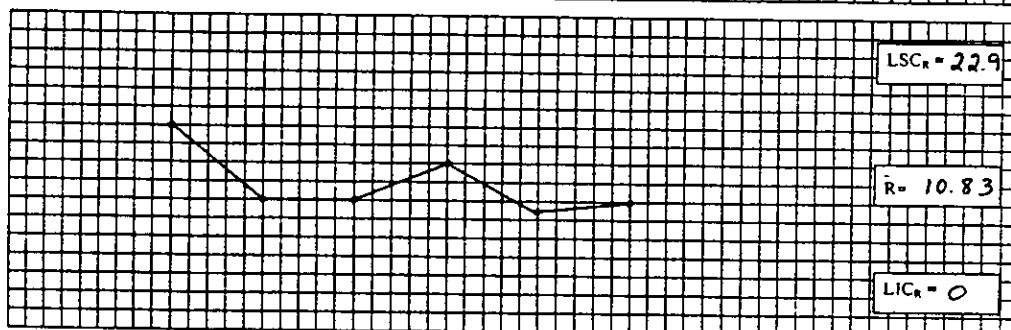
APÉNDICE IV. CARTAS DE CONTROL POR VARIABLES



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
LABORATORIOS FARMACÉUTICOS ZARAGOZA
CARTA DE CONTROL POR VARIABLES



PRODUCTO: Tabletas de Tythexam CAPACIDAD DE PRODUCCIÓN: _____
 LOTE No: MMAN-1-5 TAMAÑO DE MUESTRA: 5 Tabletas
 TAMAÑO DE LOTE: 2383 Tabletas FRECUENCIA DE TOMA: cada 3 minutos
 MÁQUINA: _____ UNIDAD DE MEDIDA: minutos
 OPERACIÓN: _____ LÍMITES DE ESPECIFICACIÓN: _____ FECHA: _____



HORA									
Mediciones individuales	X ₁	307	307	304	305	298	291		
	X ₂	307	299	299	304	294	294		
	X ₃	296	297	309	294	303	296		
	X ₄	310	298	304	304	302	293		
	X ₅	292	301	299	298	303	301		
	ΣX	1512	1502	1515	1505	1500	1475		
	\bar{X}	302	300	303	301	300	295		
	R	15	10	10	11	9	10		

$\bar{R} = 10.83$
 $\bar{x} = 300.17$
 $LCS_x = \bar{x} + A_2 \bar{R}$
 $LIC_x = \bar{x} - A_2 \bar{R}$
 $LCS_r = D_4 \bar{R}$
 $LIC_r = D_3 \bar{R}$

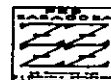
OPERADOR _____
 SUPERVISOR _____
 Vº Bº ASESOR _____

EMITIDO POR	REVISADO POR	VERIFICADA	FECHA DE EMISION	AUTORIZADO POR	FOLIA
DR. FRANCISCA ROJAS P. I. QFB. NA. MARTHA UGALDE II	DR. STRANA E. RODRIGUEZ B. DR. LEBDIA SANCHEZ O.	MAYO 2000	MAYO 2000		7/7

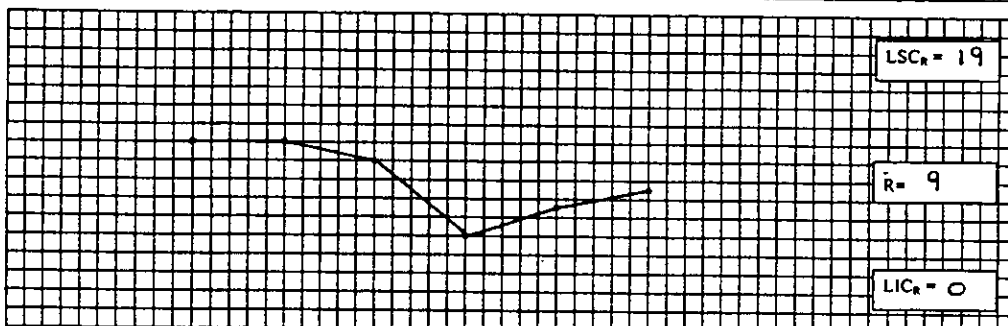
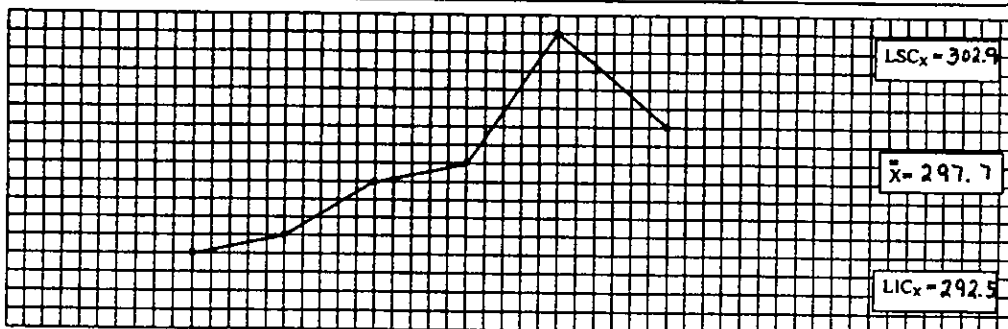
Gráfica 1a. Carta de control por variables lote MMAN-1-5



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
 FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
 LABORATORIOS FARMACÉUTICOS ZARAGOZA
 CARTA DE CONTROL POR VARIABLES



PRODUCTO: Tabletas de T. parthenium CAPACIDAD DE PRODUCCIÓN: _____
 LOTE No.: MMAN-1-6 TAMAÑO DE MUESTRA: 5 tabletas
 TAMAÑO DE LOTE: 2316 Tabletás FRECUENCIA DE TOMA: cada 3 minutos
 MÁQUINA: _____ UNIDAD DE MEDIDA: miligramos
 OPERACIÓN: _____ LÍMITES DE ESPECIFICACIÓN: _____ FECHA: _____



HORA									
Mediciones individuales	X ₁	299	295	290	299	312	292		
	X ₂	289	288	301	298	309	300		
	X ₃	289	299	296	296	311	302		
	X ₄	286	297	296	297	309	300		
	X ₅	299	286	297	297	306	300		
	ΣX	1462	1465	1480	1487	1547	1499		
	X	292	293	296	297	309	299		
	R	13	13	11	3	6	8		

$\bar{R} = 9$
 $\bar{X} = 297.67$
 $LCS_x = \bar{X} + A_2 \bar{R}$
 $LCL_x = \bar{X} - A_2 \bar{R}$
 $LCS_r = D_4 \bar{R}$
 $LCL_r = D_3 \bar{R}$

OPERADOR _____
 SUPERVISOR _____
 Vo Bo. ASESOR _____

EMITIDO POR	REVISADO POR	VIGENCIA	FECHA DE EMISION	AUTORIZADO POR	HOJA
QFB FRANCISCA ROBLES I QFB MA. MARTHA UGALDE II	QFB ROSANA I. RODRIGUEZ B QFB LIDIA SANCHEZ O	MAYO 2000-MAYO 2002	MAYO 2000		7/7

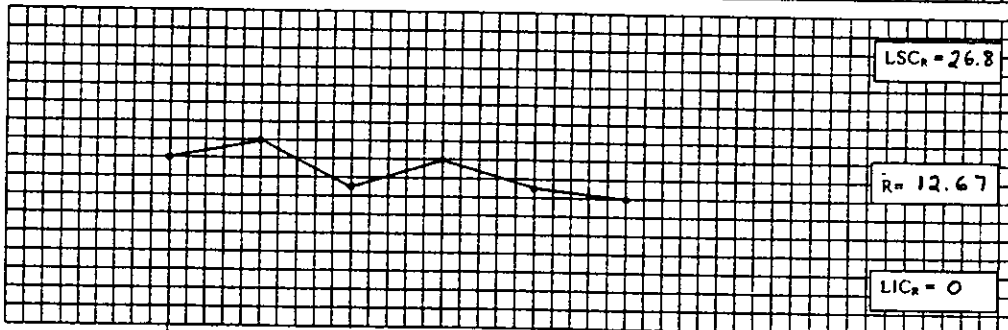
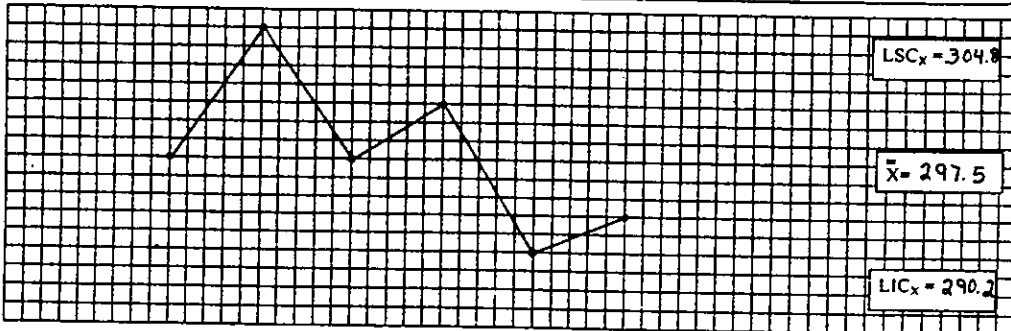
Gráfica 2a. Carta de control por variables lote MMAN-1-6



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
 FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
 LABORATORIOS FARMACÉUTICOS ZARAGOZA
 CARTA DE CONTROL POR VARIABLES



PRODUCTO: Tabletas de T. parthenium CAPACIDAD DE PRODUCCIÓN: _____
 LOTE No.: MMAN-1-7 TAMAÑO DE MUESTRA: 5 Tabletas
 TAMAÑO DE LOTE: 2236 Tabletas FRECUENCIA DE TOMA: Cada 3 minutos
 MÁQUINA: _____ UNIDAD DE MEDIDA: minutos
 OPERACIÓN: _____ LÍMITES DE ESPECIFICACIÓN: _____ FECHA: _____



HORA									
Mediciones individuales	X ₁	295	306	297	302	299	297		
	X ₂	294	308	305	296	290	297		
	X ₃	306	309	294	306	291	298		
	X ₄	292	293	294	292	292	288		
	X ₅	299	308	294	303	288	291		
	ΣX	1486	1524	1484	1499	1460	1471		
	\bar{x}	297	305	297	300	292	294		
	R	14	16	11	14	11	10		

$\bar{R} = 12.67$
 $\bar{x} = 297.5$
 $LCS_x = \bar{x} + A_2 \bar{R}$
 $LCL_x = \bar{x} - A_2 \bar{R}$
 $LCS_R = D_4 \bar{R}$
 $LCL_R = D_3 \bar{R}$

OPERADOR _____
 SUPERVISOR _____
 V. O. B. ASESOR _____

EMITIDO POR	REVISADO POR	VIGILANCIA	FECHA DE EMISIÓN	AUTORIZADO POR	TRAJA
OFD FRANCISCA ROBLIET OFD MA MARTHA UGALDE H	O MIRANAT RODRIGUEZ H OFD LIDIA SANCHEZ U	MAYO 2000-MAYO 2002	MAYO 2000		7/7

Gráfica 3a. Carta de control por variables lote MMAN-1-7