



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Estudio de una formulación fitoterapéutica para
aplicación tópica con aceite esencial del Árbol del Té
(*Melaleuca alternifolia*).

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

ALEJANDRA VICTORES MONROY

DIRECTOR:

M. EN F. LETICIA HUERTA FLORES

ASESOR:

M. EN F. IDALIA LETICIA FLORES GÓMEZ





***Dedicado a:
Mis padres
Por ser el motivo de llegar hasta aquí.***

GRACIAS...

A mi **MEJOR AMIGO**. Señor, gracias por permitirme estar aquí, logrando el sueño más grande de toda mi vida. A ti consagro mi vida y mis proyectos, siempre tienes algo bueno para mí y no sabes cómo te lo agradezco. Mi vida profesional y personal la dejo en tus manos, solo guíame para hacer siempre lo correcto y lléname con tu Bendición.

A mis padres, **Elena y Ernesto**. Por su sacrificio para sacarme adelante, por el apoyo, la compañía en mis noches de desvelo, las palabras de aliento cuando sentía que ya no podía, los regaños y llamadas de atención, los consejos, por orientarme a la toma de decisiones, por escucharme, por decirme su tan célebre frase: “¿Te falta mucho?, Ya deja eso y vete a dormir!!!!”. A los dos muchas gracias, por su amor, por ser la mayor inspiración para seguir adelante y sobre todo por ser mis dos grandes amigos. A ustedes les dedico mi vida y todos mis logros, en especial éste, el más importante y el primero de muchos más. Somos un equipo ¿Recuerdan?, pues este logro es de ustedes. **LOS AMO**.

A mis hermanos. **Beatriz, Gabriela y Ricardo**, siempre he creído que ser la hermana menor tiene muchas ventajas, además de que tus hermanos te consientan y cuiden, es de verdad importante tener un ejemplo o alguien a quien admirar, y sinceramente agradezco la diferencia de edades entre nosotros, porque así nunca he tenido que pelear con ustedes como lo hacen otros hermanos jijijiji. Se dice por ahí que lo importante en una personas son los cimientos sobre los que se construye el futuro, y pues ustedes tuvieron mucho que ver en ello. Hermanos gracias por estar aquí, por quererme y apoyarme tanto, y lo más importante por ser tan unidos y nunca abandonar a la familia, y porque sé que pase lo que pase estarán a mi lado apoyándome, no importa la decisión que tome, o el rumbo que tome mi vida, yo sé que nunca estaré sola. **Bety**. Gracias por ser la primera en estar presente cuando las cosas no marchan bien y siempre estaré agradecida por cuidarme en el hospital. **Gaby**. Siempre estaré ahí para defenderte, no importa de qué tamaño sea o el peligro que implique o si termino “rotita”, lo doy todo por ti. **Ricardo**. Gracias por ser “mi amuleto de la suerte”, ¿recuerdas cuando te dije que no me quedaría?, mírame, ya termine!!!. **Liliana**, por ser una hermana más para mí, por estar conmigo al igual que el resto de la familia desde que tengo memoria, por los consejos y tú apoyo que aunque no lo creas es muy importante para mi. **LOS AMO**

A mis niños. **Lizz**. Porque no hay alguien de quien sea mas su FAN que tú, por tu hambre de superación y ganas de seguir adelante, por tu pasión con que haces todo. Gracias **BUZZ** por ser mi compañera de vida, por ser mi hermana y por todo en lo que me has soportado y guiado. “*En el infinito y mas allá*”. **Gio**. Gracias por apoyarme siempre y por estar ahí aunque no lo necesite. **Edgar, Yose, Karla y Jared**. Por ser los hermanos pequeños que nunca tuve, por estar al pendiente de cada uno de mis logros, por ser el motivo de querer alcanzar todas las metas posibles y de hacer las cosas bien. Sé que no soy el mejor ejemplo del mundo, pero siempre hare que se sientan orgullosos de mí y siempre trazare el mejor camino que los guie para lograr todo lo que se propongan.

A mi **MEDIA SANDIA...** Que te puedo decir que no te haya dicho antes o que no sepas de sobra. Gracias por haber estado a mi lado y apoyarme en cada minuto y en cada paso que di, durante este largo y sinuoso camino que me llevó a lograr esta meta. Gracias por seguir aquí, por todo tu amor, tu paciencia, por compartir conmigo esta meta, por soñar junto a mí, y sobre todo porque los días a tu lado hicieron de esta etapa la mejor de mi vida. **TE AMO!!!...**

A mis amigos. **Marijo**. A mi hermana, mi mejor amiga y mi **SFF**, porque gracias a ti me decidí por ser QFB lo recuerdas???... por tu apoyo, por tus palabras, por recordarme que nunca es suficiente, por estar siempre en mi vida, paso a paso, en cada decisión que he tomado, y en cada momento especial de mi vida, te amo!!!. **Maricruz y Leyda**. Amigas porque junto a ustedes estoy cumpliendo este sueño que siempre compartimos, por estar junto a mí en el inicio de este gran sueño, gracias infinitas por su apoyo incondicional y sus palabras. **Phili**. Porque más que un profesor es un gran amigo, porque al igual que Mary y Ley estuvo en el inicio de este sueño, por su orientación y su apoyo al tomar la decisión de elegir esta carrera, por los consejos, el apoyo, las porras, las palabras que me ayudaron a salir cuando peor me sentía y sobre todo por estar en este y en todos los momentos que han marcado mi vida.

A la **Universidad Nacional Autónoma de México** y a mi **FES- Zaragoza**, por abrirme las puertas de esta institución, por brindarme la oportunidad de pertenecer a esta importante casa de estudios, y sobre todo por proporcionarme las herramientas necesarias para afrontar mi vida profesional.

A mi directora y asesora. **Leticia Huerta e Idalia Flores**, por permitirme desarrollar este proyecto, por su orientación y apoyo durante el mismo, y en especial por su amistad y confianza depositadas en mí, por las palabras y el apoyo cuando las cosas no iban del todo bien.

*Nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo y no en el resultado.
Un esfuerzo total es una victoria completa.''*

Mahatma Gandhi



I. INDICE

| | |
|---|----------|
| Introducción..... | 1 |
| 1. Marco teórico | 2 |
| 1.1 Preformulación | 2 |
| 1.2 Formulación | 2 |
| 1.3 Pruebas de estabilidad..... | 2 |
| 1.4 Ciclaje (pruebas de estrés)..... | 3 |
| 1.5 Escalamiento..... | 3 |
| 1.6 Vía de administración tópica..... | 4 |
| 1.7 Emulsiones | 6 |
| 1.7.1 Propiedades físicas | 7 |
| 1.7.2 Elección del tipo de emulsión | 7 |
| 1.7.3 Estabilidad física | 8 |
| 1.7.3.1 Formación de crema y sedimentación..... | 9 |
| 1.7.3.2 Agregación y coalescencia..... | 10 |
| 1.7.3.3 Inversión de fases..... | 11 |
| 1.7.3.4 Engrosamiento de gotas (Ostwald ripening) | 11 |
| 1.7.4 Estabilidad química de las emulsiones..... | 12 |
| 1.7.4.1 Agentes emulsionantes iónicos..... | 12 |
| 1.7.4.2 Oxidación..... | 12 |
| 1.7.4.3 Cambios de pH..... | 12 |
| 1.7.4.4 Contaminación microbiológica..... | 12 |
| 1.7.4.5 Condiciones adversas de almacenamiento..... | 13 |
| 1.7.5 Agentes tensoactivos..... | 13 |
| 1.7.5.1 Mecanismo de acción..... | 14 |
| 1.7.5.1.1 Actividad superficial | 14 |
| 1.7.5.1.2 Formación de micelas..... | 14 |
| 1.7.5.1.3 Solubilización..... | 15 |
| 1.7.5.2 Propiedades de los agentes emulsionantes | 16 |
| 1.7.5.2.1 Tensión de interface..... | 16 |
| 1.7.5.2.2 Formación de película..... | 16 |
| 1.7.5.2.3 Potencial eléctrico..... | 16 |
| 1.7.5.2.4 Concentración del emulsionante..... | 17 |
| 1.7.5.3 Clasificación | 17 |
| 1.7.5.3.1 Agentes tensoactivos sintéticos..... | 17 |
| 1.7.5.3.2 Agentes tensoactivos naturales..... | 20 |



| | | |
|-----------|---|----|
| 1.7.5.3.3 | Partículas finamente divididas | 21 |
| 1.7.6 | Equilibrio hidrófilo-lipófilo (HLB) | 21 |
| 1.7.7 | Formulaciones según el método HLB | 23 |
| 1.7.8 | Excipientes de la formulación..... | 25 |
| 1.7.8.1 | Tampones..... | 25 |
| 1.7.8.2 | Emolientes..... | 25 |
| 1.7.8.3 | Antioxidantes | 25 |
| 1.7.8.4 | Conservador..... | 25 |
| 1.8 | Fitofármaco | 26 |
| 1.8.1 | Marco legal en México..... | 28 |
| 1.8.1.1 | Marco legal de la herbolaria..... | 30 |
| 1.8.1.1.1 | Ley General de Salud..... | 31 |
| 1.8.1.1.2 | Reglamento de Insumos para la Salud..... | 32 |
| 1.9 | Aceite del árbol del té..... | 33 |
| 1.9.1 | <i>Melaleuca alternifolia</i> | 33 |
| 1.9.2 | Propiedades | 33 |
| 1.9.3 | Composición | 34 |
| 1.9.4 | Estabilidad..... | 35 |
| 1.9.4.1 | Estudio de estabilidad..... | 36 |
| 1.9.5 | Actividad antimicrobiana In vitro..... | 37 |
| 1.9.6 | Actividad antibacterial..... | 38 |
| 1.9.7 | Mecanismo de acción antimicrobiano..... | 39 |
| 1.9.8 | Componentes antimicrobianos del AAT..... | 40 |
| 1.9.9 | Resistencia a AAT..... | 40 |
| 1.9.10 | Seguridad y toxicidad..... | 41 |
| 1.9.10.1 | Toxicidad dermal..... | 41 |
| 1.9.11 | Problemas en la formulación..... | 42 |
| 1.10 | Aceites portadores..... | 43 |
| 2. | Planteamiento del problema | 44 |
| 3. | Objetivo | 45 |
| 3.1 | Objetivos específicos..... | 45 |
| 4. | Hipótesis | 45 |
| 5. | Diseño experimental | 46 |
| 5.1 | Material..... | 46 |
| 5.1.1 | Material..... | 46 |
| 5.1.2 | Instrumentos..... | 47 |
| 5.1.3 | Equipos..... | 47 |



| | | |
|-----------|---|----|
| 5.1.4 | Material biológico..... | 47 |
| 5.1.5 | Reactivos y materias primas..... | 48 |
| 5.2 | Preparación de reactivos | 49 |
| 5.2.1 | Mezcla de AAT al 8%..... | 49 |
| 5.2.2 | Mezcla tolueno- acetato de etilo (85:15)..... | 49 |
| 5.2.3 | Mezcla etanol-éter dietílico (1:1)..... | 49 |
| 5.2.4 | SI Fenolftaleina..... | 49 |
| 5.2.5 | SV Hidróxido de potasio 0.1 N en alcohol..... | 49 |
| 5.2.6 | SV Ácido clorhídrico 0.1 N..... | 49 |
| 5.2.7 | SI Anaranjado de metilo..... | 50 |
| 5.2.8 | SV Hidróxido de potasio 0.5 N en alcohol..... | 50 |
| 5.2.9 | SV Ácido clorhídrico 0.5 N..... | 50 |
| 5.2.10 | Mezcla éter de petróleo-parafina líquida (95:5)..... | 51 |
| 5.2.11 | SI Almidón..... | 51 |
| 5.2.12 | Medio agar para antibiótico No.1..... | 51 |
| 5.2.13 | Medio agar para antibiótico No.11..... | 51 |
| 5.2.14 | Solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2..... | 52 |
| 5.2.15 | Solución diluida de fosfatos pH 7.2..... | 52 |
| 5.2.16 | Solución salina 0.85%..... | 52 |
| 5.2.17 | Medio agar soya tripticaseina..... | 52 |
| 5.2.18 | Medio agar papa-dextrosa..... | 52 |
| 5.3 | Metodología..... | 53 |
| 5.3.1 | Preformulación..... | 53 |
| 5.3.1.1 | Caracterización del principio activo (aceite del árbol del té)..... | 53 |
| 5.3.1.1.1 | Apariencia..... | 53 |
| 5.3.1.1.2 | Índice de refracción..... | 53 |
| 5.3.1.1.3 | Miscibilidad..... | 53 |
| 5.3.1.1.4 | Densidad..... | 53 |
| 5.3.1.1.5 | Identificación..... | 53 |
| 5.3.1.2 | Caracterización del aceite portador..... | 54 |
| 5.3.1.2.1 | Apariencia..... | 54 |
| 5.3.1.2.2 | Índice de acidez..... | 54 |
| 5.3.1.2.3 | Índice de saponificación..... | 54 |
| 5.3.1.2.4 | Densidad..... | 54 |
| 5.3.1.2.5 | Miscibilidad..... | 54 |
| 5.3.1.2.6 | Identificación de aceites fijos..... | 55 |
| 5.3.1.3 | Estabilidad..... | 56 |



| | | |
|------------|---|-----------|
| 5.3.1.4 | Compatibilidad..... | 56 |
| 5.3.2 | Formulación..... | 57 |
| 5.3.3 | Selección de la formulación final..... | 57 |
| 5.3.4 | Escalamiento..... | 58 |
| 5.3.5 | Pruebas de control de calidad como forma farmacéutica..... | 58 |
| 5.3.5.1 | Apariencia..... | 58 |
| 5.3.5.2 | pH..... | 58 |
| 5.3.5.3 | Consistencia..... | 58 |
| 5.3.5.4 | Diámetro de dispersión..... | 58 |
| 5.3.5.5 | Limites microbianos..... | 58 |
| 5.3.6 | Evaluación microbiológica | 59 |
| 5.3.7 | Ciclaje..... | 60 |
| 6. | Resultados y análisis de resultados | 62 |
| 6.1 | Preformulación | 62 |
| 6.1.1 | Caracterización..... | 62 |
| 6.1.1.1 | Caracterización del principio activo..... | 62 |
| 6.1.1.2 | Caracterización del aceite portador..... | 63 |
| 6.1.2 | Estabilidad..... | 64 |
| 6.1.2.1 | Estabilidad a la sexta semana..... | 64 |
| 6.1.2.2 | Estabilidad a las 24 horas..... | 65 |
| 6.1.3 | Compatibilidad..... | 67 |
| 6.2 | Formulación..... | 69 |
| 6.3 | Formula seleccionada..... | 72 |
| 6.3.1 | Pruebas de control de calidad de la formulación seleccionada..... | 72 |
| 6.4 | Escalamiento..... | 73 |
| 6.5 | Pruebas de control de calidad..... | 74 |
| 6.6 | Evaluación microbiológica..... | 75 |
| 6.6.1 | Prueba 1..... | 75 |
| 6.6.2 | Prueba 2..... | 79 |
| 6.7 | Ciclaje..... | 81 |
| 7. | Conclusiones..... | 84 |
| 8. | Sugerencias..... | 85 |
| 9. | Referencias bibliográficas..... | 86 |
| 9.1 | Cibergrafia..... | 89 |
| 10. | Anexo 1: Etiqueta del producto..... | 90 |



ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Escala HLB para la clasificación de la función surfactante..... | 23 |
| Tabla 2. Valores requeridos de HLB para varios aceites y ceras..... | 23 |
| Tabla 3. Ley general de salud. Artículo 224. B. Clasificación de los Medicamentos por su Naturaleza..... | 30 |
| Tabla 4. Reglamento de Insumos para la Salud. Capítulo VI. Medicamento Herbolario..... | 31 |
| Tabla 5. Reglamento de Insumos para la Salud. Capítulo único. Remedios Herbolarios..... | 32 |
| Tabla 6. Composición del aceite esencial del árbol de te..... | 34 |
| Tabla 7. Susceptibilidad bacteriana del aceite esencial del árbol del té (AAT). Especies bacterianas clasificadas según su MIC de AAT..... | 38 |
| Tabla 8. Miscibilidad del AAT frente a distintos disolventes..... | 53 |
| Tabla 9. Miscibilidad del aceite portador frente a distintos disolventes..... | 55 |
| Tabla 10. Condiciones para estudio de estabilidad de AAT y mezcla de AAT al 8%..... | 56 |
| Tabla 11. Posibles excipientes de la formulación..... | 57 |
| Tabla 12. Resultados de la caracterización del Aceite Esencial del Árbol del Té..... | 62 |
| Tabla 13. Resultados de la caracterización del aceite portador..... | 63 |
| Tabla 14. Resultados de estudio de estabilidad a la sexta semana..... | 64 |
| Tabla 15. Resultados del estudio de estabilidad a las 24h..... | 65 |
| Tabla 16. Resultados de la compatibilidad del AAT diluido al 8% y los posible excipientes de la formulación, a la sexta semana..... | 67 |
| Tabla 17. Formulaciones propuestas..... | 69 |
| Tabla 18. Fórmula seleccionada. Formulación para 50 g de producto..... | 72 |
| Tabla 19. Resultados de las pruebas de calidad realizadas a la formula seleccionada..... | 72 |
| Tabla 20. Resultados de las pruebas de calidad realizadas a lote de 1 kg..... | 74 |



| | |
|--|----|
| Tabla 21. Resultados de la evaluación microbiológica..... | 75 |
| Tabla 22. Resultados de la evaluación microbiológica de la formulación seleccionada..... | 79 |
| Tabla 23. Resultados de las pruebas de calidad posteriores al ciclaje (envase de polietileno)..... | 80 |
| Tabla 24. Resultados de las pruebas de calidad posteriores al ciclaje (envase de vidrio ámbar)..... | 80 |
| Tabla 25. Resultados de la prueba de pérdida de peso para los materiales de empaque tentativos..... | 82 |



ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Fig1. Tipos de emulsiones | 6 |
| Fig 2. Emulsiones múltiples..... | 7 |
| Fig 3. Mecanismos que contribuyen a la inestabilidad de emulsiones | 9 |
| Fig 4. Estructura de un agente tensoactivo | 13 |
| Fig 5. Tipos de películas formadas por agentes tensoactivos en la interfase aceite/agua..... | 16 |
| Fig 6. Estructura de monoestereato de sorbitan..... | 19 |
| Fig 7. Estructura general de los polisorbatos..... | 19 |
| Fig 8. Escala de HLB para la clasificación de la función surfactante..... | 21 |
| Fig 9. Fitomedicamento..... | 28 |
| Fig 10. <i>Melaleuca alternifolia</i> | 33 |
| Fig 11. Principales componentes del aceite esencial de <i>Melaleuca alternifolia</i> | 34 |
| Fig 12. Productos finales de la hidrólisis y la oxidación de los componentes del AAT..... | 36 |
| Fig 13. Preparación del inóculo..... | 59 |
| Fig 14. Colocación de muestras en placa..... | 60 |
| Fig 15. Frasco de vidrio ámbar con tapa de baquelita con capacidad para 50 mL..... | 60 |
| Fig 16. Frasco de polietileno ámbar con tapa de plástico con capacidad para 50 mL | 60 |
| Fig 17. Caja 1. Ampicilina-aceite portador..... | 75 |
| Fig 18. Caja 2. Ampicilina-AAT..... | 75 |
| Fig 19. Caja 3. Ampicilina-mezcla de AAT al 8%..... | 75 |
| Fig 20. Caja 4. Ampicilina-formulación..... | 76 |
| Fig 21. Caja 5. Aceite portador..... | 76 |
| Fig 22. Caja 6. Aceite del árbol de té..... | 76 |



| | |
|---|----|
| Fig. 23. Caja 7. Mezcla de AAT al 8%..... | 77 |
| Fig. 24. Emulsión: Caja 1..... | 78 |
| Fig 25. Emulsión: Caja 2..... | 78 |
| Fig 26. Emulsión: Caja 4..... | 79 |



ÍNDICE DE ABREVIATURAS

W: Agua

O: Aceite

W/O: Agua en aceite

O/W: Aceite en agua

O/W/O: Aceite en agua en aceite

W/O/W: Agua en aceite en agua

nm: nanómetros

µm: micrómetros

HLB: Hydrophilic –lipophilic balance (balance hidrofílico-lipofílico)

BHT: Butilhidroxitolueno

AAT: Aceite esencial del árbol del té

MIC: Concentración Mínima Inhibitoria

mL: mililitros

°C: Grados Celsius

MBC: Concentración Mínima Bactericida

WHO: World Health Organisation (Organización Mundial de la Salud)



INTRODUCCIÓN

La Fitoterapia se define como la ciencia que estudia el empleo de productos de origen vegetal con finalidad terapéutica, ya sea para prevenir, atenuar o bien, para curar algún estado patológico. Actualmente existen innumerables sustancias químicas de origen vegetal que pueden considerarse fármacos y que han sido descubiertas a partir de su empleo en la medicina tradicional. Esto nos brinda la oportunidad de encontrar nuevos agentes activos a partir de una fuente prima natural.

La Fitoterapia constituye una alternativa terapéutica más dentro de todo el abanico de posibilidades que nos brinda la terapéutica actual. Para que esta herramienta sea realmente útil, es necesario hacer un uso racional de la misma, básicamente empleando de manera apropiado los preparados a base de plantas medicinales. Actualmente es enorme la difusión y popularidad de las terapias vegetales en el mundo.

El uso de plantas para el tratamiento de enfermedades es una técnica que se ha practicado por generaciones. Un ejemplo claro es el empleo del aceite esencial del árbol del té (*Melaleuca alternifolia*) por las tribus aborígenes australianas de la Costa Norte de Nueva Gales del Sur, estas tribus utilizaban las hojas de este árbol para tratar cortaduras, quemaduras, picaduras de insectos e infecciones de la piel.

Actualmente estudios clínicos han demostrado la actividad antimicrobiana que presenta el aceite esencial del árbol del té frente a diversas especies de bacterias (*Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aureginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea*), hongos (*Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*) e incluso virus (HSV- herpes).

En la actualidad la resistencia de los microorganismos a los fármacos existentes tiende a incrementarse, razón por la cual es importante buscar nuevos agentes antimicrobianos para combatir las infecciones y superar los problemas de resistencia bacteriana y los efectos secundarios de algunos fármacos. Así mismo esto podría llevarnos al desarrollo de formas farmacéuticas con actividad farmacológica definida a través de plantas medicinales y colaborar con la gran demanda social de nuevos agentes antibacterianos.

Es por ello que en este proyecto se desarrollará una formulación fitoterapéutica tópica con actividad antibacteriana mediante el empleo de *Melaleuca alternifolia* (aceite esencial del árbol del té).



1. MARCO TEÓRICO

1.1 PREFORMULACIÓN

- Antes de proponer un fármaco dentro del desarrollo de una forma farmacéutica, éste deberá someterse a la fase llamada "preformulación". La preformulación implica los estudios que deben realizarse antes de iniciar el desarrollo de una formulación. En esta etapa se lleva a cabo la caracterización de las propiedades fisicoquímicas de un fármaco. El objetivo de este estudio es permitir el desarrollo racional de una forma farmacéutica estable, segura y eficaz. (1)
- Antes de desarrollar cualquier forma farmacéutica es necesario investigar determinadas propiedades físicas y químicas fundamentales del fármaco y otras propiedades derivadas de éste. De esta información dependen muchos de los pasos y métodos utilizados posteriormente en el desarrollo de la forma farmacéutica. (2)
- Las actividades de preformulación van desde la identificación de los nuevos agentes activos hasta la caracterización de las propiedades físicas necesarias para el diseño de las formas farmacéuticas. La información crítica provista durante la preformulación puede mejorar la introducción exitosa de nuevas entidades terapéuticas para seres humanos. (3)

1.2 FORMULACIÓN

Etapa posterior a la preformulación. Comprende aquellas pruebas que se realizan variando los porcentajes de los excipientes para ver el efecto que estos tienen en la formulación hasta llegar a las proporciones adecuadas para que la fórmula farmacéutica cumpla con los requisitos establecidos para el producto. (4)

1.3 PRUEBAS DE ESTABILIDAD

El propósito de las pruebas de estabilidad es proveer evidencia de cómo la calidad de un fármaco o una formulación varía con el tiempo bajo la influencia de factores ambientales como son temperatura, luz y humedad. El objetivo de las pruebas de estabilidad es establecer las condiciones adecuadas de almacenamiento, periodos de reanálisis y vida de anaquel.



Las pruebas de estabilidad deberán incluir factores que afectan la potencia farmacológica, formación de productos de degradación y la integridad microbiológica y física del producto. Así mismo, en las pruebas de estabilidad puede medirse otros parámetros de calidad considerados importantes, como son las propiedades organolépticas del producto.

Los estudios de estabilidad son llevados a cabo durante todo el desarrollo de nuevos fármacos, formulación de productos o en la formulación de nuevos excipientes. El tipo de prueba dependerá de la etapa del desarrollo del proceso y de la naturaleza del fármaco y producto bajo prueba. (1)

1.4 CICLAJE (PRUEBAS DE ESTRESS)

Las pruebas son llevadas a cabo durante la preformulación para ayudar a seleccionar compuestos y excipientes para optimizar el desarrollo de la formulación. Son pruebas en las cuales un fármaco o producto son *almacenados* bajo condiciones de estrés, es decir, son expuestos a extremas condiciones de temperatura o humedad, o bien a luz intensa. El objetivo de estos estudios es dar información acerca de las posibles rutas de degradación de los fármacos y qué factores químicos y físicos afectarán la degradación.

Esta información proporcionará una guía importante para el formulador respecto a los factores que afectarán la estabilidad del producto. Los estudios de estabilidad acelerada pueden también ser usados para predecir la vida de anaquel en condiciones ambientales, para desarrollar procesos de fabricación o bien, para seleccionar el *material de empaque adecuado*. (1, 5)

1.5 ESCALAMIENTO

El escalamiento es definido generalmente como el proceso de aumentar el tamaño del lote. El escalamiento de un proceso también puede ser visto como un procedimiento para aplicar el mismo proceso a diferentes volúmenes de producción. (6)

El escalamiento es el desarrollo de una metodología para realizar la producción a escala industrial partiendo de la información obtenida de lotes piloto de menor volumen; puede abarcar cambios en el equipo y proceso, con un incremento asociado en el rendimiento, en las siguientes situaciones:



- Un incremento en el tamaño del lote de 10% o duplicar en equipos iguales.
- Uso de alta velocidad en equipos idénticos.
- Incremento en la velocidad de salida por más del 50% para equipos idénticos.
- Cambios en tipo de equipo para una etapa dada del proceso.

Cuando el escalamiento es llevado a cabo, se recomienda ampliamente que un lote experimental sea producido para demostrar que el proceso cumple con los criterios de aceptación del proceso y especificaciones del producto. (1)

1.6 VÍA DE ADMINISTRACIÓN TÓPICA

La administración tópica se emplea para aportar un fármaco en el punto de aplicación o inmediatamente por debajo. Aunque en ocasiones se absorbe suficiente cantidad de fármaco hacia la circulación como para causar efectos sistémicos, la absorción es demasiado errática por lo que esta vía no puede usarse de rutina para causar efecto sistémico. Un gran número de medicamentos tópicos se aplican en la piel, aunque también se los emplean en los ojos, la nariz y la garganta, los oídos y la vagina, etc. (3)

Algunas formas farmacéuticas tópicas son:

- **Aerosol:** Sistema coloidal constituido por una fase líquida o sólida dispersa en una fase gaseosa, envasado bajo presión y que libera el o los fármacos por activación de un sistema apropiado de válvulas.
- **Crema:** Preparación líquida o semisólida que contiene el o los fármacos y aditivos necesarios para tener una emulsión, generalmente aceite en agua, comúnmente con un contenido de agua superior al 20 por ciento.
- **Emulsión:** Sistema heterogéneo, generalmente constituido de dos líquidos no miscibles entre sí; en el que la fase dispersa está compuesta de pequeños glóbulos distribuidos en el vehículo en el cual son inmiscibles. La fase dispersa se conoce también como interna y el medio de dispersión se conoce como fase externa o continua. Existen emulsiones del tipo agua/aceite o aceite/agua y se pueden presentar como semisólidos o líquidos. El o los fármacos y aditivos pueden estar en cualquiera de las fases.
- **Espuma:** Preparación semisólida, constituida por dos fases: una líquida que lleva el o los fármacos y aditivos, y otra gaseosa que lleva gas propulsor para que el producto salga en forma de nube.
- **Gel:** Preparación semisólida, que contiene el o los fármacos y aditivos, constituido por lo general por macromoléculas dispersas en un líquido que puede ser agua, alcohol o



aceite, que forman una red que atrapa al líquido y que le restringe su movimiento, por lo tanto son preparaciones viscosas.

- **Loción:** Presentación líquida, se puede mostrar como solución, suspensión o emulsión, que contiene el o los fármacos y aditivos, y cuyo agente dispersante es predominantemente agua.
- **Pasta:** Forma semisólida que contiene el o los fármacos y aditivos, hecha a base de una alta concentración de polvos insolubles (20 a 50%), en bases grasas o acuosas absorbentes o abrasivos débiles combinados con jabones.
- **Polvo:** Forma sólida que contiene el o los fármacos y aditivos, finamente molidos y mezclados para asegurar su homogeneidad.
- **Solución:** Preparado líquido, claro y homogéneo, obtenido por disolución de el o los fármacos y aditivos en agua u otro disolvente y que se utiliza externa o internamente.
- **Suspensión:** Sistema disperso compuesto de dos fases, las cuales contienen el o los fármacos y aditivos. Una de las fases, la continua o externa es generalmente un líquido y la fase dispersa o interna está constituida de sólidos (fármacos) insolubles, pero dispersables en la fase externa.
- **Ungüento:** Preparación de consistencia blanda que contienen el o los fármacos y aditivos incorporados a una base apropiada que le de masa y consistencia. Se adhiere y aplica en la piel y mucosas. La base puede ser liposoluble o hidrosoluble, generalmente es anhidra o con un máximo del 20% de agua. Cuando contienen una base lavable o que se remueva con agua se le denomina también unguento hidrofílico. También conocido como pomada.(7)

1.7 EMULSIONES

Las emulsiones son sistemas heterogéneos que constan de al menos un líquido miscible que se encuentra disperso en otro líquido en forma de glóbulos, cuyos diámetros generalmente exceden $0.1 \mu\text{m}$. Estas preparaciones constan de dos fases en la cual una fase (fase dispersa o fase interna) está finamente dispersa en la otra (fase continua o externa). Las emulsiones son definidas también como mezclas termodinámicamente inestables de esencialmente *dos líquidos inmiscibles y un agente emulsionante* para mantenerlos unidos. El proceso de combinar estos ingredientes se denomina *emulsificación*.

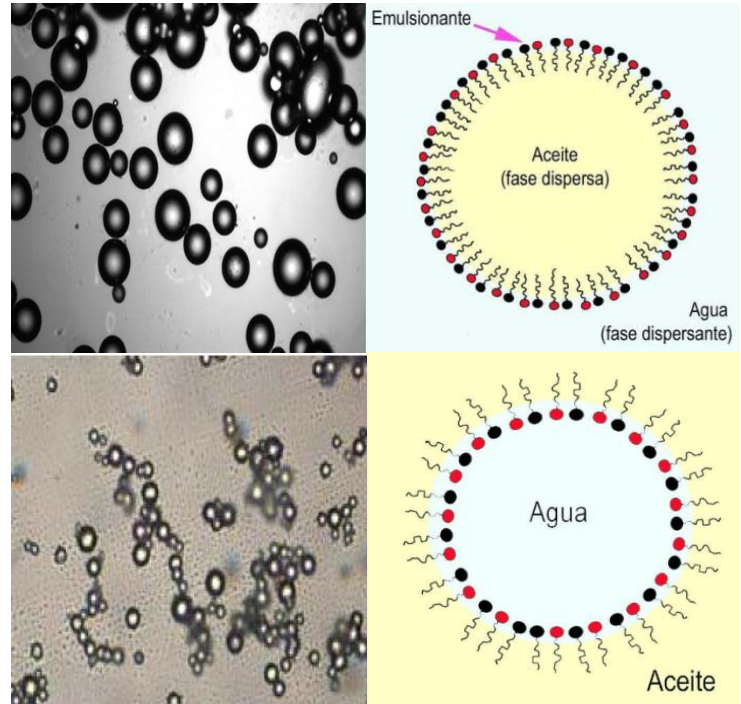


Fig 1. Tipos de emulsiones (40, 41)

Las emulsiones son usadas como formas farmacéuticas cuando dos líquidos inmiscibles deberán ser dispersados en la misma preparación. Comúnmente, la mezcla tiene un componente polar y un componente no polar, cada uno de ellos es un líquido. Cuando la fase dispersa es no polar (aceite: O) y el medio de dispersión es polar (agua: W), la emulsión es conocida como aceite en agua (O/W). Cuando la fase dispersa es agua y el medio de dispersión es aceite, la emulsión es agua en aceite (W/O). Ver Fig.1. Si una emulsión es O/W o W/O, depende de las propiedades del sistema usado para estabilizar la interface. Dado el hecho de que hay dos fases incompatibles, la estabilidad física de las emulsiones es mínima pero puede ser maximizada por la selección de un adecuado sistema estabilizador de emulsiones. En muchas emulsiones farmacéuticas, los sistemas estabilizadores son compuestos de surfactantes (iónicos y/o no iónicos), polímeros (polímeros no iónicos, polielectrolitos o biopolímeros) o mezclas de estos. También es posible formar emulsiones múltiples, por ejemplo se pueden encerrar varias gotas de agua en gotas de aceite de mayor tamaño que después se dispersan a su vez en agua (W/O/W). También es posible conseguir su forma opuesta (O/W/O). Ver Fig.2. Si los glóbulos dispersados tienen dimensiones coloidales (diámetro entre 1 nm y $1 \mu\text{m}$), el preparado se denomina microemulsión. Las *microemulsiones* son sistemas homogéneos, transparentes y termodinámicamente estables.

Además, se forman espontáneamente al mezclar los componentes en las proporciones adecuadas. Pueden ser dispersiones O/W o W/O pero los glóbulos son más pequeños que en las emulsiones gruesas. (2,8)

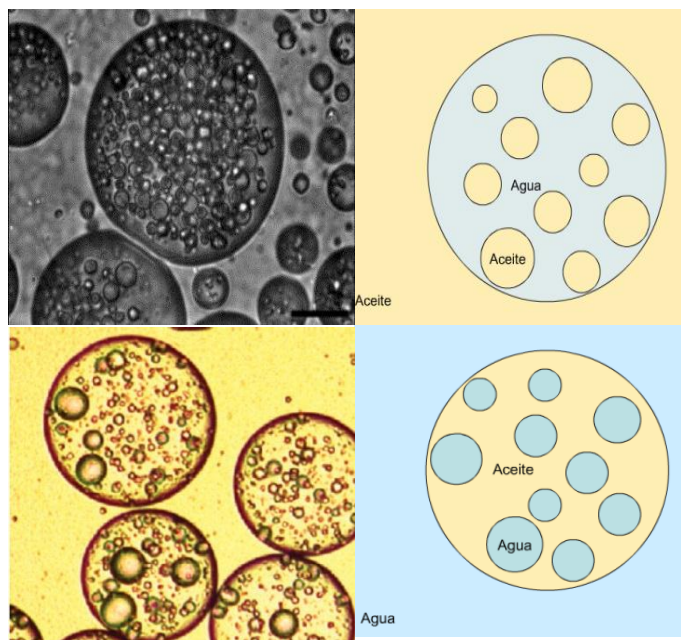


Fig 2. Emulsiones múltiples (40, 41)

1.7.1 Propiedades físicas

- El producto debe mantenerse suficientemente homogéneo al menos durante el periodo que transcurre entre la agitación del envase y la extracción de la cantidad requerida.
- Si aparece un sedimento o crema durante el almacenamiento, debe resuspenderse fácilmente con agitación moderada del envase.
- La viscosidad resultante no debe ser tan elevada que sea difícil la extracción del producto de su envase.
- Cualquier partícula suspendida debe ser pequeña y de tamaño uniforme para dar un producto homogéneo, sin textura arenosa.(2)

1.7.2 Elección del tipo de emulsión

La decisión de formular una emulsión (O/W) o (W/O) eliminará muchos sistemas de emulsión inadecuados.

- **Emulsiones (W/O).** Tendrán efecto oclusivo al hidratar las capas superiores del estrato corneo e inhibir la evaporación de las secreciones endócrinas, lo cual, a su vez, puede influir en la velocidad de absorción de los fármacos desde estos preparados. Este tipo de emulsiones también es útil para limpiar la piel de suciedad liposoluble, aunque su textura grasienta no siempre resulta cosméticamente aceptable.



- **Emulsiones (O/W).** Son menos eficientes como limpiadoras, pero son más aceptables para el consumidor, en particular para su uso en las manos. De igual modo, las cremas hidratantes, diseñadas para prevenir la pérdida de hidratación de la piel y, por tanto, inhibir la desecación del estrato córneo, son más eficientes si se formulan como emulsiones de (W/O) que producen una película coherente y repelente al agua.

Tipos de emulsiones de acuerdo la vía de administración.

1.7.2.1 Administración oral.

1.7.2.2 Administración intravenosa.

1.7.2.3 **Administración tópica.** Las emulsiones semisólidas se denominan *cremas* y los preparados más fluidos se llaman lociones o, si están destinados al masaje cutáneo, son linimentos. Existen en ambas modalidades, (O/W) y (W/O). Las primeras se usan para la aplicación tópica de fármacos hidrosolubles, principalmente para efecto local. No tienen la textura grasienta que se relaciona con las bases oleosas y, por tanto son agradables de usar y se lavan fácilmente de las superficies cutáneas. (2)

1.7.3 Estabilidad física

Podemos definir una emulsión estable como un sistema en el que los glóbulos conservan su carácter inicial y permanecen distribuidos uniformemente por toda la fase continua. El agente emulsificante tiene la función de formar una película interfacial alrededor de los glóbulos dispersos; dependiendo de las características físicas de esta barrera, los glóbulos se fusionan o no al acercarse entre sí. Si la película posee carga eléctrica, las fuerzas de repulsión contribuirán a la estabilidad.

Se denomina craqueo o rotura a la separación de una emulsión en sus fases constituyentes. Se deduce que cualquier agente que destruya la película de superficie de contacto romperá la emulsión.

Algunos de los factores que pueden romper una emulsión son:

- La adición de una sustancia química incompatible con el agente emulsificante y que por consiguiente destruye su capacidad emulsificante.
- El crecimiento bacteriano: sustancias proteicas y los agentes tensoactivos no iónicos son medios excelentes para el crecimiento bacteriano.

- Los cambios de temperatura: un aumento de la temperatura puede desnaturalizar los agentes emulsificantes proteicos y alterar las características de solubilidad de los agentes emulsificantes no iónicos: el calentamiento a más de 70°C destruye la mayoría de las emulsiones. También la congelación rompe una emulsión; esto puede deberse a que el hielo formado destruye la película de superficie de contacto que rodea a los glóbulos.

Una emulsión es estable cuando conserva su apariencia original, olor, color y otras propiedades físicas. Los tres fenómenos principales asociados con la estabilidad física son:

1.7.3.1 **Formación de crema y sedimentación:** El movimiento ascendente o descendente de las gotitas dispersas en relación con la fase continua, denominado *formación de crema* o *sedimentación* respectivamente. Ocurre cuando los glóbulos flocculan y se concentran en una parte específica de la emulsión *la formación de crema* es el movimiento hacia arriba de glóbulos dispersos con respecto a la fase continua, mientras que la *sedimentación*, es el proceso inverso, es el desplazamiento de los glóbulos hacia abajo. En cualquier emulsión tiene lugar uno u otro de estos procesos, según las densidades de las fases dispersa y continua. Esto es indeseable en un producto farmacéutico en el que la homogeneidad es esencial para la administración de una dosis correcta y uniforme.

Los factores que influyen en la velocidad de sedimentación y formación de crema son el diámetro de los glóbulos suspendidos, la viscosidad del medio de suspensión y la diferencia de densidad entre la fase dispersa y el medio de dispersión. (3)

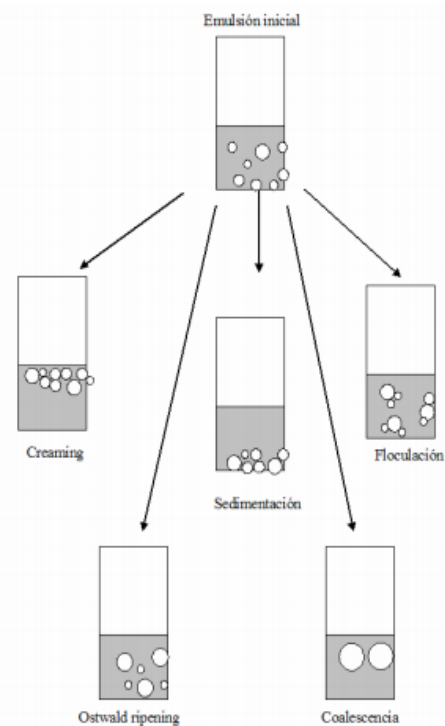


Fig 3. Mecanismos que contribuyen a la inestabilidad de emulsiones. (42)

Cuatro métodos son empleados para minimizar la formación de crema o sedimentación:



- **Aumento de la viscosidad de la fase continua.** Muchos agentes emulsionantes coadyuvantes, en particular los coloides hidrofílicos, son potenciadores de la viscosidad y esta propiedad forma parte de la capacidad emulsionante. El almacenamiento del producto en una baja temperatura (pero por encima del punto de congelación) aumentará la viscosidad de la fase continua y también reducirá la energía cinética del sistema. Con ello disminuirá la velocidad de migración de los glóbulos de la fase dispersa.
- **Reducción del tamaño de glóbulo a un tamaño fino.** Este factor depende habitualmente del método de fabricación. Un agente emulsionante eficiente no solo estabilizará la emulsión, sino que facilitará el proceso real de emulsión para dar un producto que tenga un tamaño pequeño de los glóbulos.
- **Reducción de la diferencia de densidades entre las dos fases.** El corte de la emulsión se podrá prevenir si las densidades de ambas fases fueran idénticas. En la práctica este método no se usa nunca porque solo se podría conseguir en un intervalo de temperatura pequeño debido a las diferencias de los coeficientes de expansión entre los componentes diferentes.
- **Control de la concentración de la fase dispersa.** No es fácil estabilizar una emulsión que contenga menos del 20% de fase dispersa, ya que el corte puede producirse con facilidad. Una concentración más alta de la fase dispersa podría constituir un obstáculo para el movimiento de las gotas, y en consecuencia, daría lugar a la reducción de la velocidad de corte. (2)

1.7.3.2 **Agregación y coalescencia:** La *agregación (floculación)* implica la agregación de glóbulos dispersos en agrupaciones laxas dentro de la emulsión. Las gotas individuales mantienen su identidad, pero cada agrupación se comporta físicamente como una unidad. Los glóbulos se juntan pero no se fusionan y pueden no redispersarse con la agitación sin embargo, debido a la cercanía de las gotitas en el flóculo, estas se fusionarán si se produce algún debilitamiento en las películas interfaciales. Con la agregación aumentaría la velocidad de corte de la emulsión. Como la agregación precede a la coalescencia cualquier factor que impida o retrase la floculación mantendría, en consecuencia, la estabilidad de la emulsión. La floculación se produce fácilmente y no se puede evitar. La redispersión puede conseguirse fácilmente mediante agitación. La presencia de una densidad de carga elevada en las gotas dispersadas garantizará la presencia de una barrera de alta energía y por tanto, reducirá la incidencia de la floculación.



La *coalescencia*, es decir la fusión completa de los glóbulos, origina un descenso del número de glóbulos y finalmente la separación de dos fases no miscibles. En las emulsiones, la *agregación* precede a la coalescencia; sin embargo, esta no necesariamente sigue a la agregación, que hasta cierto punto es reversible y si bien no es tan seria como la coalescencia, puede acelerar la formación de crema o la sedimentación porque el agregado se comporta como un glóbulo aislado.

Mientras que la agregación se relaciona con el potencial eléctrico de las gotitas, la coalescencia depende de las propiedades estructurales de la película de interfase. La combinación de emulsionante produce mayor estabilidad en las emulsiones que si se agrega uno solo. La combinación apropiada de surfactantes produce una capa compleja densamente empaquetada en la interface aceite-agua. De la mezcla de capas de los emulsionantes se genera un efecto benéfico adicional que es el aumento de la viscosidad de la capa emulsificante interfacial y esto incrementa la estabilidad de la emulsión porque se inhibe el adelgazamiento de capa en los puntos de contacto entre gotas. La mezcla de surfactantes provee mayor elasticidad a la capa interfacial, lo que aporta mayor resistencia a la ruptura por colisión de las gotas de la emulsión.(2, 3)

1.7.3.3 **Inversión de fases:** Fenómeno en el cual una emulsión O/W se transforma en W/O y viceversa. Se dice que una fase se invierte cuando pasa de emulsión O/W a W/O o viceversa. A veces la inversión puede ser producida por el agregado de un electrolito o por cambios en la relación fase volumen. La inversión puede darse con frecuencia cuando una emulsión, preparada por calentamiento y mezclando las dos fases se enfría. Esto se debe presumiblemente a los cambios de las solubilidades de los agentes emulsionantes que dependen de la temperatura.

La adición de un electrolito a surfactantes aniónicos y catiónicos puede anular su ionización debido al efecto del ion común y así puede formarse una emulsión W/O, aun cuando normalmente se produciría una emulsión O/W. Las emulsiones estabilizadas con agentes emulsificantes no iónicos como los polisorbatos pueden invertirse al calentarse, debido a la rotura de los enlaces H responsables de las características hidrófilas del polisorbato; de este modo, se altera su valor de HLB y se invierte la emulsión. (3, 2)

1.7.3.4 **Engrosamiento de gotas (Ostwald ripening).** Se debe al crecimiento de las gotas más grandes a costa de las más pequeñas hasta que éstas últimas prácticamente desaparecen.(8)



1.7.4 Estabilidad química de las emulsiones

Es necesario garantizar que cualquier sistema emulgente usado no solo sea física sino también químicamente compatible con el principio activo y con los demás componentes de la emulsión.

1.7.4.1 **Agentes emulsionantes iónicos.** Se ha demostrado que la presencia de electrólitos puede influir en la estabilidad de una emulsión, ya sea por:

- Reducción de la energía de interacción entre los glóbulos adyacentes.
- Efecto de salinización, por el cual las concentraciones altas de electrólitos pueden quitar los agentes emulsionantes de sus capas hidratadas y con ello provocar su precipitación.

1.7.4.2 **Oxidación.** Muchos de los aceites y grasas usados en la formulación de emulsión son de origen animal o vegetal y pueden ser susceptibles a la oxidación por el oxígeno atmosférico o por la acción de microorganismos. El enranciamiento resultante se manifiesta por la formación de productos de degradación de olor y sabor desagradable. Estos problemas también pueden producirse con ciertos agentes emulsionantes. La oxidación de origen microbiológico se controla con conservantes antimicrobianos y para la oxidación atmosférica se usan agentes reductores o, más habitualmente antioxidantes.

1.7.4.3 **Cambios de pH.** Estos cambios también pueden provocar la rotura de las emulsiones. Los jabones sódicos pueden reaccionar con los ácidos para producir el ácido graso libre y la sal sódica del ácido, por tal motivo las emulsiones estabilizadas por jabón se formulan habitualmente en un pH alcalino.

1.7.4.4 **Contaminación microbiológica.** La contaminación de las emulsiones por los microorganismos puede afectar negativamente a las propiedades fisicoquímicas del producto provocando problemas como la producción de gas, cambios en su color y olor, hidrólisis de grasas y aceites, cambios de pH en la fase acuosa y rotura de la emulsión. La mayoría de los hongos y muchas bacterias se multiplican fácilmente en la fase acuosa de una emulsión a temperatura ambiente y muchos hongos también toleran un amplio intervalo de pH.

Las emulsiones O/W tienden a ser más sensibles al deterioro microbiano que las emulsiones W/O ya que la fase oleosa actúa como una barrera para la diseminación

de los microorganismos a través del producto y cuando menos agua haya, menor será el crecimiento posible. Por tanto, es necesario incluir un agente antimicrobiano para prevenir el crecimiento de cualquier microorganismo que pudiera contaminar el producto.

1.7.4.5 **Condiciones adversas de almacenamiento.** Las condiciones adversas de acondicionamiento también pueden provocar inestabilidad de la emulsión. Un aumento de la temperatura provocará un aumento del movimiento cinético, tanto de las gotas dispersadas como del agente emulsionante en la superficie de contacto aceite/agua. Este efecto sobre la fase dispersa permitirá que la barrera de energía sea fácilmente superada y por tanto, aumentará el número de colisiones entre los glóbulos. (2)

1.7.5 Agente tensoactivo

Debido a su estructura química, algunos compuestos tienden a acumularse en la separación entre las dos fases. Estos componentes se denominan anfífilos, agentes tensoactivos o surfactantes. Su adsorción a las diferentes superficies de contacto entre sólidos, líquidos y gases provoca algunos cambios en las características de dicha superficie, que tienen una gran importancia en farmacia, así por ejemplo, la reducción de la tensión de superficie de contacto entre el aceite y el agua facilita la formación de emulsiones.

Los compuestos *tensoactivos* se caracterizan por poseer dos regiones diferentes en su estructura química, denominadas *hidrófila* (con afinidad por el agua) e *hidrófoba* (que repele el agua). Se conoce como *anfipatía* la existencia de esas dos regiones en una molécula, y por consiguiente, las moléculas suelen recibir el nombre de *anfipáticas*. Las partes *hidrófobas* suelen ser cadenas de hidrocarburos saturados o insaturados, o con menos frecuencia, anillos aromáticos o heterocíclicos. Las regiones *hidrófilas* pueden ser aniónicas, catiónicas o no iónicas. Generalmente los surfactantes se clasifican atendiendo a la naturaleza del grupo hidrófilo. (2)

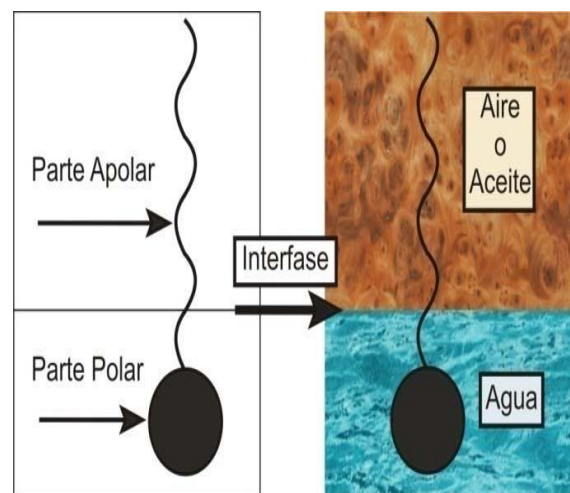


Fig 4. Estructura de un agente tensoactivo (43)



1.7.5.1 Mecanismo de acción

1.7.5.1.1 *Actividad superficial.*

Estos compuestos deben su actividad superficial a la doble estructura de las moléculas anfipáticas, una característica exclusiva de los mismos, consecuencia de su adsorción a la superficie de contacto solución-aire y mediante la cual la parte hidrófoba de la molécula escapa del entorno acuoso hostil dirigiéndose hacia la fase de vapor situada por encima. Las moléculas presentes en la superficie de un líquido no están rodeadas completamente por otras moléculas similares, como sucede en el seno del líquido. Debido a ello, las moléculas del resto de la solución ejercen sobre las moléculas de la superficie una fuerza neta de atracción hacia el interior, que induce a la superficie a contraerse. La contracción de la superficie es espontánea, es decir, se acompaña de una disminución de la energía libre. Por consiguiente, la superficie contraída representa un estado de mínima energía libre y cualquier intento de expandir la superficie implica un aumento de la misma. La tensión superficial mide la fuerza de contracción de la superficie. Las moléculas tensoactivas en solución acuosa se orientan en la superficie alejando el grupo hidrófobo de la fase acuosa y consiguiendo de este modo un estado de mínima energía libre. Debido a ello, algunas de las moléculas acuosas de la superficie son sustituidas por grupos no polares. Las fuerzas de atracción entre estos grupos y las moléculas de agua, o entre los propios grupos, es menor que las que existen entre las moléculas de agua. De este modo se reduce la fuerza de contracción de la superficie, y por consiguiente la tensión superficial. La intrusión de moléculas tensoactivas en la superficie de contacto entre dos líquidos inmiscibles reduce la tensión de superficie de contacto, en algunos casos hasta un valor tan bajo que se produce una emulsificación espontánea de los dos líquidos.(2)

1.7.5.1.2 *Formación de micelas*

La tensión superficial de una solución surfactante disminuye gradualmente al aumentar la concentración. Sin embargo a una concentración determinada esta capa se satura y se produce otra forma de protección del grupo hidrófobo del surfactante frente al medio acuoso, que consiste en la formación de agregados (habitualmente esféricos) de dimensiones coloidales, denominados *micelas*. Las cadenas hidrófobas forman el núcleo de la micela y quedan protegidas del entorno acuoso por la cubierta circundante constituida por los grupos hidrófilos, que mantienen la solubilidad en el agua.



Se denomina *concentración micelar crítica* a la concentración a la que empiezan a formarse las micelas en una solución. La tendencia de las sustancias hidrófobas de apartarse del agua debido a la intensa atracción entre las moléculas de agua y no por el soluto hidrófobo se ha denominado efecto hidrófobo. Cuando los grupos no polares se aproximan hasta tocarse disminuye el número total de moléculas de agua en contacto con dichos grupos.

Una micela típica es una estructura esférica o casi esférica constituida por unas 50-100 moléculas de surfactante. La micela tiene un radio ligeramente inferior al de la cadena hidrocarbonada extendida (aproximadamente 2.5 nm), y su núcleo interior posee las propiedades de un hidrocarburo líquido. En las micelas iónicas, aproximadamente el 70-80% de los contraiones son atraídos a las proximidades de la micela, lo que reduce la carga general. La capa compacta que envuelve el núcleo de una micela iónica, que contiene los grupos de cabeza y los contraiones unidos, se denomina *capa de Stern*. La superficie externa de la *capa de Stern* es la superficie de deslizamiento de la micela. El núcleo y la capa de Stern forman en conjunto lo que se conoce como *micela cinética*. La capa Stern está rodeada por una capa difusa denominada *doble capa eléctrica de Gouy-Chapman*, que contiene los demás contraiones necesarios para neutralizar la carga de la micela cinética. El espesor de la capa doble depende de la fuerza iónica de la solución y se comprime considerablemente en presencia de un electrólito. Las micelas no iónicas poseen un núcleo hidrófobo rodeado por una cubierta de cadenas oxietilénicas, que a menudo recibe el nombre de *capa en empalizada*.(2)

1.7.5.1.3 Solubilización

El núcleo interno de una micela posee las propiedades de un hidrocarburo líquido, y por consiguiente, es capaz de disolver materiales solubles en esos líquidos. Se denomina solubilización a este proceso por el cual sustancias insolubles o parcialmente solubles en agua pasan a una solución acuosa incorporándose a micelas. El lugar de la solubilización dentro de la micela depende fundamentalmente de la naturaleza química del solubilizado. Generalmente se acepta que los solubilizados no polares se disuelven en el núcleo hidrocarbonado. Los compuestos insolubles en agua que contienen grupos polares se orientan con el grupo polar en la superficie de la micela iónica entre los grupos micelares de cabeza cargada y los grupos hidrófobos incrustados en el núcleo hidrocarbonado de la micela. Los solubilizados ligeramente polares sin una estructura anfífilica diferenciada se reparten entre la superficie y el núcleo de la micela. Se denomina *concentración aditiva máxima (CAM)* a la cantidad máxima de solubilizado que se puede incorporar a un sistema determinado a una concentración fija. (2)

1.7.5.2 Propiedades de los agentes emulsionantes

- Ser tensoactivos para reducir la tensión superficial por debajo de 10 dinas/cm
- Ser adsorbidos rápidamente, alrededor de los glóbulos dispersos como una película condensada, no adherente que prevendrá la coalescencia.
- Impartir a los glóbulos un potencial eléctrico adecuado para asegurar la repulsión mutua.
- Aumentar la viscosidad de la emulsión.
- Ser efectivos en una concentración razonablemente baja.(3)

1.7.5.2.1 Tensión de interfase.

El descenso de la tensión de interfase es una de las formas de reducir el aumento de energía libre superficial asociado con la formación de glóbulos de una emulsión.

1.7.5.2.2 Formación de película.

El principal requisito de un agente emulsionante potencial es que forme fácilmente una partícula alrededor de cada glóbulo de material disperso. El propósito principal de esta película es formar una barrera que impida la coalescencia de glóbulos que entren en contacto unas con otras. Para que la película sea una barrera eficiente, tiene que poseer cierto grado de elasticidad superficial y no debe adelgazarse ni romperse cuando es presionada entre dos glóbulos. Si se rompe tiene que ser capaz de volver a formarse rápidamente.

1.7.5.2.3 Potencial eléctrico

La presencia de una carga bien definida sobre la superficie de un glóbulo es importante para promover la estabilidad causando repulsión entre los glóbulos que se aproximan. Es probable que ese potencial pueda aumentar cuando se emplea un agente emulsionante ionizado.

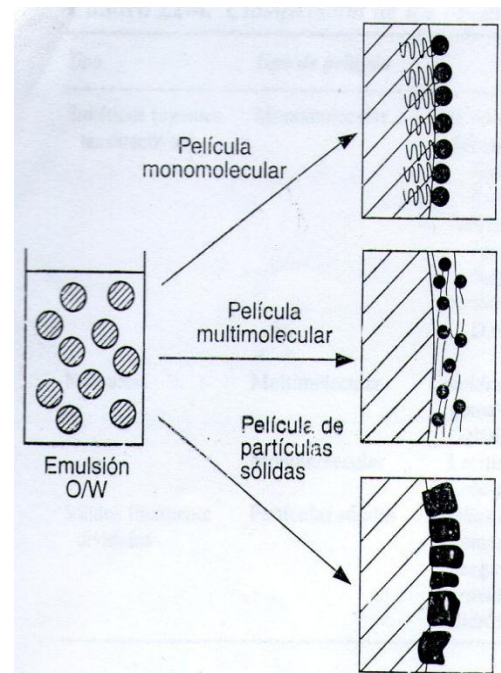


Fig 5. Tipos de películas formadas por agentes tensoactivos en la interfase aceite/agua (3)



1.7.5.2.4 Concentración del emulsionante

El principal objetivo de un agente emulsionante es formar una película condensada alrededor de los glóbulos de la fase dispersa. Una concentración inadecuada servirá poco para prevenir la coalescencia. Aumentando la concentración de un emulsionante por arriba del nivel óptimo tampoco se incrementa apreciablemente la estabilidad. Lo importante es usar la cantidad mínima necesaria para producir una emulsión satisfactoria. (3)

1.7.5.3 **Clasificación**

Los agentes emulsionantes pueden clasificarse sobre la base de su estructura química, sistema que guarda cierta correlación con aquel que se basa en el mecanismo de acción. La mayoría de los emulsionantes que forman *películas mononucleares* son compuestos orgánicos *sintéticos*. La mayoría de los que forman *películas multinucleares* se obtienen de *fuentes naturales* y son *orgánicas*. Un tercer grupo está compuesto por *partículas sólidas* siempre *inorgánicas*, que forman *películas compuestas por partículas sólidas finamente divididas*.

1.7.5.3.1 Agentes tensoactivos sintéticos

- a. Aniónicos. Estos compuestos se disocian en soluciones acuosas para formar aniones de carga negativa, que son los responsables de su capacidad emulsionante. Son productos muy usados porque son baratos, pero por su toxicidad se usan solo para preparados de aplicación externa.
- Metales alcalinos y jabones aniónicos. Las sales de potasio, sodio y amonio de los ácidos grasos de cadena larga. Producen emulsiones O/W estables pero, en algunos casos pueden requerir la presencia de un agente emulsionante coadyuvante no iónico para formar una película compleja monomolecular en la superficie de contacto aceite/agua. Las soluciones de jabones alcalinos tiene un pH alto; comienza a precipitar por debajo de pH 10 porque el ácido graso no ionizado, ya se ha formado y es poco soluble en agua. El ácido graso libre es ineficaz como emulsionante y de esta forma las emulsiones formadas a partir de jabones alcalinos no son estables a valores de pH inferiores a 10.(2,3)
- Jabones aminados. Son las sales formadas a partir de un ácido graso y una amina orgánica como es la *trietanolamina*. Mientras que estos emulsionantes O/W también están limitados a preparaciones externas, su alcalinidad es considerablemente menor



- que la de los jabones alcalinos y son activos como emulsionantes hasta un pH de alrededor de 8. Estos agentes son menos irritantes que los jabones alcalinos. Son muy usados en productos farmacéuticos y cosméticos. (3)
- Jabones metálicos. Se usan habitualmente las sales de calcio, magnesio y aluminio de ácidos grasos, son insolubles en agua y forman emulsiones W/O.
 - Compuestos sulfatados y sulfonados. Son ésteres neutralizados del ácido sulfúrico de alcoholes grasos como los alcoholes laurílicos y cetílico. Estos ésteres son un grupo importante de tensoactivos farmacéuticos. Se usan sobretodo como agentes humectantes, aunque tienen algún valor como emulsionantes, en particular si se usan junto con algún agente auxiliar. Los sulfonatos son compuestos en los cuales el átomo de azufre está unido en forma directa al átomo de carbono. Un compuesto utilizado es el laurilsulfato de sodio muy utilizado para producir emulsiones O/W. Debido a su alta solubilidad en agua y su incapacidad para formar películas condensadas en la superficie de contacto aceite/agua, siempre se usa junto con una agente emulsionante no iónico y liposoluble para producir una película compleja condensada.(2,3)
- b. Catiónicos. Estos materiales se disocian en soluciones acuosas para formar cationes de carga positiva que otorgan propiedades emulgentes. El grupo más importante de emulgentes catiónicos son los compuestos de amonio cuaternario. Son muy utilizados como emulsionantes O/W. Como muchos emulsionantes aniónicos, si se usan solos producirán únicamente emulsiones de mala calidad, pero si se usan con emulgentes no iónicos liposolubles coadyuvantes forman preparados estables. Son incompatibles con los agentes tensoactivos aniónicos y los aniónicos polivalentes y son estables a pH altos, lo que en general provoca la pérdida de la actividad antibacteriana en estas formulaciones. Estos compuestos tienen actividad antibacteriana lo que los hace convenientes para productos antifúngicos emulsionados como lociones y cremas para la piel. El pH de una emulsión preparada con un emulsionante catiónico se encuentra en el rango de pH de 4-6. Dado que este intervalo incluye el pH normal de la piel. Los emulsionantes catiónicos son ventajosos en este sentido. Dada la toxicidad de los surfactantes catiónicos, tienden a usarse solo en la formulación de cremas antisépticas donde la naturaleza catiónica del emulgente también es responsable de las propiedades antisépticas del producto. (2,3)
- c. No iónicos. Estos surfactantes no disociados se usan ampliamente como agentes emulsionantes cuando poseen un equilibrio apropiado entre grupos hidrófilos y



lipófilos dentro de la molécula. Su popularidad radica en que a diferencia de los compuestos aniónicos y catiónicos, los compuestos aniónicos no son susceptibles a cambios de pH ni a la presencia de electrólitos. Estos productos van desde compuestos liposolubles que estabilizan emulsiones W/O a materiales hidrosolubles que dan productos O/W. Es habitual el uso de una combinación de un emulgente hidrosoluble con otro liposoluble para obtener la película interfacial compleja necesaria para una estabilidad óptima de la emulsión.

La mayoría de los surfactantes no iónicos se basan en:

- Un ácido graso o alcohol (habitualmente con 12-18 átomos de carbono), cuya cadena hidrocarbonada proporciona la molécula hidrofóbica.
- Un alcohol (-OH) o un grupo óxido de etileno (-OCH₂CH₂-) que proporciona la molécula hidrofílica de la molécula.

Al variar las proporciones relativas de los grupos hidrofílico e hidrofóbico se pueden obtener muchos productos diferentes.

Son particularmente útiles debido a su baja toxicidad y capacidad irritante, por lo que se emplean para productos de administración oral y parenteral. No obstante son más caros.

Los más usados son:

- Glicol y ésteres de glicerol. El monoésterato de glicerol es un material fuertemente hidrofóbico que produce emulsiones W/O débiles. La adición de pequeñas cantidades de sales de sodio, potasio o trietanolamina de los ácidos grasos adecuados producirá un monoésterato de glicerilo que es un emulsionante O/W útil.
- Esteres de sorbitan. Se producen por esterificación de uno o más grupos hidroxilo de sorbitan con los ácidos laúrico, oleico, palmítico o esteárico. Esta gama de surfactantes muestra propiedades lipofílicas y tienden a formar emulsiones W/O. No obstante son más utilizados junto a polisorbatos para producir

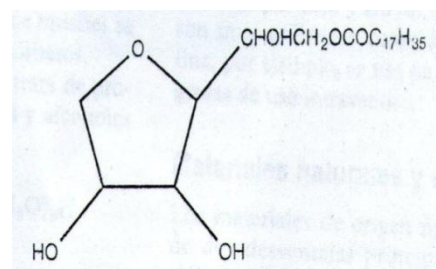


Fig 6. Estructura general de los polisorbatos. (3)

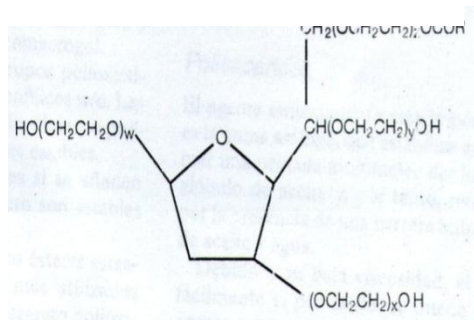


Fig 7. Estructura de monoésterato de sorbitan (3)



emulsiones O/W o W/O. (Ver fig. 6)

- Polisorbatos. Los derivados del polietilenglicol de los ésteres de sorbitano generan polisorbatos. R representa una cadena de ácido graso (Ver fig.7); las variaciones en el ácido graso usado y en el número de grupos oxietileno de las cadenas de polietilenglicol producirán varios productos de diferentes solubilidades en aceite y agua. En general los polisorbatos se usan junto al correspondiente éster de sorbitano para formar una película condensada compleja en la superficie de contacto aceite/agua. Los polisorbatos son compatibles con la mayoría de los materiales aniónicos, catiónicos y no iónicos. Tienen un pH neutro y son estables ante los efectos del calor, del cambio de pH y de las concentraciones altas de electrólitos. Su baja toxicidad los hace adecuados para el uso oral y algunos también se usan para preparados parenterales. Tienen la desventaja de su sabor desagradable y se deben tomar precauciones cuando se seleccione el conservante adecuado, ya que muchos se inactivan al formar complejos con los polisorbatos. (2,3)

1.7.5.3.2 Agentes tensoactivos naturales

Los materiales de origen natural presentan dos ventajas principales: muestran una variación entre lote y lote, pueden ser susceptibles al crecimiento de bacterias y mohos.

- a. Polisacáridos: El más importante de este grupo es la goma arábiga, que estabiliza emulsiones O/W al formar una película multimolecular fuerte que rodea cada glóbulo de aceite, y por tanto retarda la coalescencia por la presencia de una barrera hidrofílica entre las fases de aceite y agua. Debido a su baja viscosidad, el corte se producirá rápido, y por tanto se puede incluir un espesante a la formulación.
- b. Polisacáridos semisintéticos: puede reducir los problemas que se asocian con la variación entre lotes, existen derivados semisintéticos como emulgentes O/W o estabilizadores. Se comercializan varios grados de metilcelulosa que ejercen su acción de un modo similar a goma arábiga.
- c. Sustancias que contienen esteroides. La cera de abeja, la grasa de lana y los alcoholes de lana se usan para la formulación de emulsiones. La cera de abeja se usa principalmente en cremas cosméticas de tipo O/W y W/O.
La lanolina anhidra consiste principalmente en alcoholes grasos normales con ésteres de ácido graso de colesterol y otros esteroides. Formarán emulsiones W/O con una concentración baja de la fase dispersa y también puede incorporarse por sus propiedades emolientes.(2)



1.7.5.3.3 *Partículas finamente divididas*

Este grupo de emulsionantes forman películas alrededor de las gotitas dispersas y producen emulsiones que tienen estabilidad física considerable. Los sólidos finamente triturados se pueden adsorber en la superficie de contacto aceite/agua, formando una película coherente que impide físicamente la coalescencia de los glóbulos dispersos. Si las partículas se humedecen preferentemente con la fase acuosa, se obtendrán productos O/W, mientras que la humectación preferencial con el aceite producirá W/O.

1.7.6 Equilibrio hidrófilo-lipófilo (HLB)

El sistema de equilibrio hidrófilo-lipófilo aprovecha la circunstancia de una barrera interfacial, mas hidrofílica favorece las emulsiones O/W, mientras que una barrera menos polar favorece las emulsiones W/O para valorar los surfactantes y los agentes emulsificantes. El sistema HLB fue ideado por Griffin en 1949. A un agente emulsificante se le asigna un número HLB que es característico de su polaridad relativa.

Mediante este sistema de números se establece un intervalo de HLB de eficacia óptima para cada clase de surfactante (Ver Fig. 8). Este es un método empírico pero permite comparar diferentes tipos químicos de agentes emulsificantes.

Existen varias formulas para calcular los valores de HLB de los surfactantes no iónicos. Podemos calcular los valores para los polisorbatos (Tween) y los esteres de sorbitán (Span) con la ecuación 1:

$$HLB = (E + P)/5..... ec.1$$

Donde *E* es el porcentaje de peso de cadenas oxietilénicas y *P* es el porcentaje de peso de grupos alcoholes polihídricos (glicerol o sorbitol) de la molécula. Si el surfactante contiene solo polioxietileno como grupo hidrófilo, podemos usar una forma simplificada de la ecuación 1:

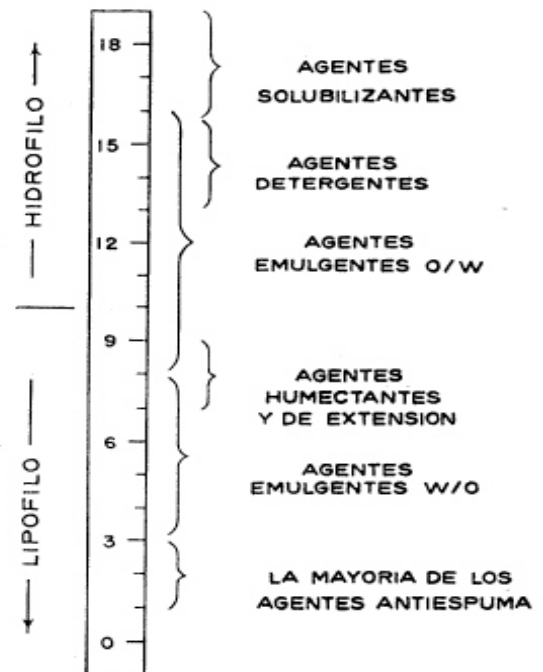


Fig 8. Escala de HLB para la clasificación de la función surfactante (44)



$$HLB = E/5..... ec. 2$$

También es posible calcular los valores HLB directamente a partir de la fórmula química empleando números de grupos determinados empíricamente. En este caso, la ecuación queda así:

$$HLB = 7 + \sum \text{número de grupos hidrófilicos} - \sum \text{número de grupos lipófilicos}..... ec. 3$$

Finalmente se puede obtener el HLB de ésteres y ácidos grasos y alcoholes polihídricos, como el glicerilmonoestearato, a partir del valor de saponificación, S, del éster, y el número de ácido A, del ácido graso, mediante la ecuación 4:

$$HLB = 20[1 - S/A]..... ec.4$$

Se ha sugerido además que determinados agentes emulsificantes de un valor HLB dado funcionan mejor con una fase oleosa específica y esto ha dado origen al concepto de *valor HLB necesario* para cualquier aceite o combinación de aceites. Sin embargo esto no significa necesariamente que todo surfactante que tenga el valor HLB necesario produzca una buena emulsión, ya que determinados surfactantes pueden interactuar con el aceite, con otro componente de la emulsión o incluso entre sí.

Por las razones mencionadas anteriormente, las mezclas de agentes tensoactivos producen emulsiones más estables que cuando se utilizan por separado. Se asume que el HLB de una mezcla de surfactantes x de A y (1-x) de B, equivale a la mezcla algebraica de los dos números HLB.

$$HLB_{mezcla} = xHLB_A + (1-x)HLB_B..... ec.5$$

Se ha comprobado que a un HLB óptimo para una emulsión concreta, el tamaño medio de las partículas es mínimo, y que este factor contribuye a la estabilidad del sistema de emulsión.

El sistema HLB es usado para describir las características de un surfactante. Es una escala numérica que se extiende desde 1 a 50. Los agentes más tensoactivos tienen números HLB altos (más de 10), mientras que aquellos con número HLB de 1 a 10 se consideran lipófilos. Los tensoactivos con un equilibrio adecuado de sus afinidades lipófilas e hidrófilas son agentes emulsionantes efectivos, dado que se concentran en la interfase aceite/agua. La relación entre valores HLB y la aplicación del agente tensoactivo se muestra en la Tabla 2.(2)



Tabla 1. Escala HLB para la clasificación de la función surfactante. (2)

| Límites HLB | | Surfactante |
|-------------|-------|---------------------------|
| Bajo | 0-3 | Agentes antiespumante |
| | 3-6 | Agentes emulsionante W/O |
| | 7-9 | Agentes humectantes |
| Alto | 8-16 | Agentes emulsionantes O/W |
| | 13-15 | Detergentes |
| | 15-18 | Agentes solubilizantes |

1.7.7 Formulaciones según el método HLB

Se ha diseñado un método útil para calcular las cantidades relativas de los emulgentes necesarios para producir una emulsión físicamente más estable. Es el método conocido como equilibrio hidrófilo-lipófilo (HLB). Aunque en sus orígenes se aplicó a los agentes tensoactivos no iónicos, su uso se ha extendido hasta los emulgentes iónicos. Cada surfactante tiene asignado un número HLB que representa las proporciones relativas de los componentes lipófilos e hidrófilos de la molécula. Los números altos (hasta un máximo teórico de 18), indicarán por tanto, un surfactante que muestra propiedades principalmente hidrofílicas o polares, mientras que los números bajos representan las característica lipofílicas o no polares.

Cada tipo de aceite usado requerirá un emulgente con un número particular de HLB para garantizar la obtención de un producto estable. Por ejemplo cuanto más polar sea la fase oleosa, más polar será el sistema emulgente en una emulsión de (O/W). Si una formulación contiene una mezcla de aceites, grasas o ceras, se puede calcular el HLB necesario, como se muestra con el siguiente ejemplo de una emulsión (O/W):

Componentes de la formulación

| | |
|----------------------|-----|
| Parafina líquida | 35% |
| Grasa de lana | 1% |
| Alcohol cetílico | 1% |
| Sistema emulsionante | 5% |
| Agua | cbp |

Tabla 2. Valores requeridos de HLB para varios aceites y ceras. (2)

| | Emulsión W/O | Emulsión O/W |
|------------------|--------------|--------------|
| Cera de abeja | 5 | 12 |
| Alcohol cetílico | - | 15 |
| Parafina líquida | 4 | 12 |
| Parafina blanda | 4 | 12 |
| Grasa de lana | 8 | 10 |



El porcentaje total de la fase oleosa es 37 y la proporción de cada componente es:

| | |
|------------------|-----------------------------|
| Parafina líquida | $37/37 \times 100 = 94,6\%$ |
| Grasa de lana | $1/37 \times 100 = 2,7\%$ |
| Alcohol cetílico | $1/37 \times 100 = 2,7\%$ |

El número total de HLB requerido se calcula como sigue:

| | |
|-------------------------------|-----------------------------|
| Parafina líquida (HLB 12) | $94,6/100 \times 12 = 11,4$ |
| Grasa de lana (HLB 10) | $2,7/100 \times 10 = 0,3$ |
| Alcohol cetílico (HLB 15) | $2,7/100 \times 15 = 0,4$ |
| Total de HLB requerido | = 12,1 |

Partiendo de consideraciones teóricas, esta formulación en particular requiere una mezcla emulgente de HLB 12,1 para producir la emulsión más estable. Sin embargo hay que tener en cuenta que la presencia de otros componentes, en particular los que pueden distribuirse en la fase oleosa también pueden afectar el valor de HLB requerido. Por tanto es necesario preparar una serie de emulsiones con mezclas de un par dado de agentes emulsionantes no iónicos que abarquen una amplia variedad de valores de HLB. Esta medida también es importante si no se dispone del valor requerido de HLB para una fase oleosa. El valor del HLB de la mezcla emulgente que genera la emulsión más estable es el valor requerido para esa fase oleosa.

Asumiendo que se va a usar una mezcla de monoleato de sorbitan (HLB 4,3) y polioxietilomonoleato de sorbitan (HLB 15) como sistema emulsionante, las proporciones de cada componente que se van a añadir a la emulsión para obtener un HLB de 12,1 se calculan como sigue:

Sea A la concentración porcentual del surfactante hidrofílico y B el porcentaje del surfactante hidrofóbico requerido para obtener una mezcla que tenga un valor de HLB de X. Entonces:

$$A = \frac{100(x - HLB \text{ de } B)}{(HLB \text{ de } A - HLB \text{ de } B)} \dots \dots \dots \text{ec. 6}$$

$$B = 100 - A \dots \dots \dots \text{ec. 7}$$

Por tanto, en el ejemplo:



$$A = \frac{100(12,1 - 4,3)}{(15 - 4,3)} = 72,9$$

$$B = 100 - 72,9 = 27,1$$

Como el porcentaje total de la mezcla emulgente de la formulación es 5, el porcentaje de cada emulsionante será:

$$\text{Monooleato de sorbitan} \quad 5 \times 27,1 / 100 = 1,36$$

$$\text{Polioxietilonomonooleato de sorbitan} \quad 5 - 1,36 = 3,64$$

En las series de emulsiones de prueba se puede evaluar entonces la estabilidad, basado en el hecho de que el grado de corte o separación se encuentra en el mínimo con un valor óptimo de HLB. En caso de que varias series muestren una estabilidad igualmente buena o igualmente mala, con lo que no se pueda elegir un valor adecuado de HLB, la concentración total del emulgente se puede aumentar o reducir, respectivamente, y repetirse la fabricación del lote.(2)

1.7.8 Excipientes de la formulación

- 1.7.8.1 **Tampones.** Necesaria para mantener la estabilidad química, controlar la isotonicidad y garantizar la compatibilidad fisiológica. Aunque la adición de electrolitos puede tener efectos profundos sobre la estabilidad física de las emulsiones.
- 1.7.8.2 **Emolientes.** Se pueden incorporar para reducir la evaporación de agua, ya sea en el producto envasado cuando se retira el cierre o de la superficie de la piel después de su aplicación. Si se aplica vía tópica, las concentraciones altas pueden extraer la humedad de la piel y deshidratarla.
- 1.7.8.3 **Antioxidantes.** El butilhidroxianisol (BHA) es un producto muy utilizado para la protección de aceites fijos y grasas en un concentración de hasta el 0,02% y en algunos aceites esenciales hasta el 0.1%. Un antioxidante similar es el butilhidroxitolueno (BHT).
- 1.7.8.4 **Conservador.** La contaminación de las emulsiones por microorganismos pueden afectar negativamente las propiedades fisicoquímicas del producto, provocando problemas como la producción de gas, cambios en su color y olor, hidrólisis de grasas y aceites, cambios de pH en la fase acuosa y rotura de la emulsión. Aunque



no haya signos visibles de contaminación, una emulsión puede contener muchas bacterias. La mayoría de los hongos y muchas bacterias se multiplicarán fácilmente en la fase acuosa de una emulsión a temperatura ambiente y muchos hongos también toleran un amplio intervalo de pH. Las emulsiones de aceite en agua tienden a ser más sensibles al deterioro microbiano que los productos de agua en aceite ya que, en este último caso, la fase oleosa actúa como barrera entre la diseminación de los microorganismos a través de producto y cuanto menos agua haya, menor será el crecimiento.

Por tanto, es necesario incluir un agente antimicrobiano para prevenir el crecimiento de cualquier microorganismo que pudiera contaminar el producto. (2)

1.8 FITOFÁRMACO

La Organización Mundial de la Salud, OMS, ha definido Fitomedicina como la aplicación de principios activos de origen vegetal en terapéutica, basado en el conocimiento científico moderno, esto es una base que se sostiene en los pilares fundamentales de la farmacología y la terapéutica moderna: farmacodinamia, farmacocinética, estudios preclínicos, clínicos y la divulgación de éstos a través de medios reconocidamente validados por las comunidades científicas.

La **Fitoterapia Moderna** o **Fitomedicina**, se nutre del desarrollo de la Fitofarmacología básica y clínica, esto es de los estudios farmacológicos realizados con plantas o sus componentes y lo que la lleva a fundamentarse en el uso racional y científico de productos vegetales con finalidad terapéutica; puede así ser utilizada para prevenir, curar o anular estados patológicos.

En la actualidad se estima que alrededor del 80% de la población utiliza medicina alternativa herbolaria (Fitoterapia) como tratamiento paralelo a la medicina tradicional y su uso ha estado siempre muy arraigado a la tradición.

En el mundo hace más de treinta años que se ha vuelto a considerar el tratamiento fitoterapéutico de las enfermedades comunes como el resfrío, la hipertensión, la diabetes, el cáncer, enfermedades neurodegenerativas (Alzheimer, Parkinson), dolor (lumbago, dolor de cabeza, artrosis), y alteraciones del sistema nervioso central, epilepsia, depresión, ansiedad, estrés, entre otras. El surgimiento de gran diversidad de estudios científicos ha venido a sostener firmemente que este tipo de enfermedades o los síntomas que ellas producen, pueden ser tratados con la Fitoterapia Moderna.



Se hace necesario capacitar profesionales de la salud, para que puedan utilizar y/o comprender los alcances de la Fitoterapia Moderna o Fitomedicina de modo que a través del uso de sus herramientas terapéuticas puedan contribuir a mejorar la atención de pacientes y en cuanto a lo cultural, los lleve a incrementar el conocimiento de tradiciones etnomedicinales arraigadas en nuestra población, lo que sin duda contribuirá a reforzar la prevención y el tratamiento de las enfermedades. (9)

El **fitomedicamento** es definido por la OMS en 1992 como:

“Son productos medicinales acabados y etiquetados cuyos ingredientes activos estandarizados, están formados por partes aéreas o subterráneas de plantas u otro material vegetal, o combinaciones de éstos, en estado bruto o en forma de preparaciones vegetales. Por material vegetal se entienden: jugos, resinas, aceites vegetales y cualquier otra sustancia de naturaleza semejante”.

La estandarización se realiza considerando alguno de sus compuestos bioactivos. Los principios bioactivos son las sustancias responsables de la acción farmacológica. Así entonces tenemos que del conocimiento de los efectos de las plantas y a través de la estandarización que considera algunos de los compuestos bioactivos (responsables de la acción) se llega al fitofármaco. (10)

En los **fitomedicamentos** se reúne el conocimiento ancestral a estos aspectos, se les suma el moderno conocimiento farmacológico básico y clínico. De esta forma, se continúa el uso de la planta medicinal, ahora en forma de extracto estandarizado y con el respaldo de toda la tecnología farmacéutica actual, lográndose un medicamento que no guarda diferencia en su aspecto y calidad con los medicamentos alopáticos y presentando generalmente mayor rango terapéutico, es decir condiciones de mayor seguridad que hacen confiable su uso como medicamentos de venta libre.

Fitomedicamento entonces es un extracto vegetal estandarizado (Fitofármaco), normalizado y estabilizado y del cual se conoce una acción farmacológica definida y cuantificada, fabricado con tecnología farmacéutica moderna y que su utilización terapéutica está basada en resultados obtenidos de estudios clínicos diseñados y desarrollados de acuerdo con criterios internacionales. Dicho de modo simple, el fitofármaco es al fitomedicamento lo que el fármaco o principio activo es al medicamento alopático. Los fitomedicamentos se producen en variadas formas tales como: tabletas, grageas, comprimidos, cápsulas, gotas y jarabes. (10)

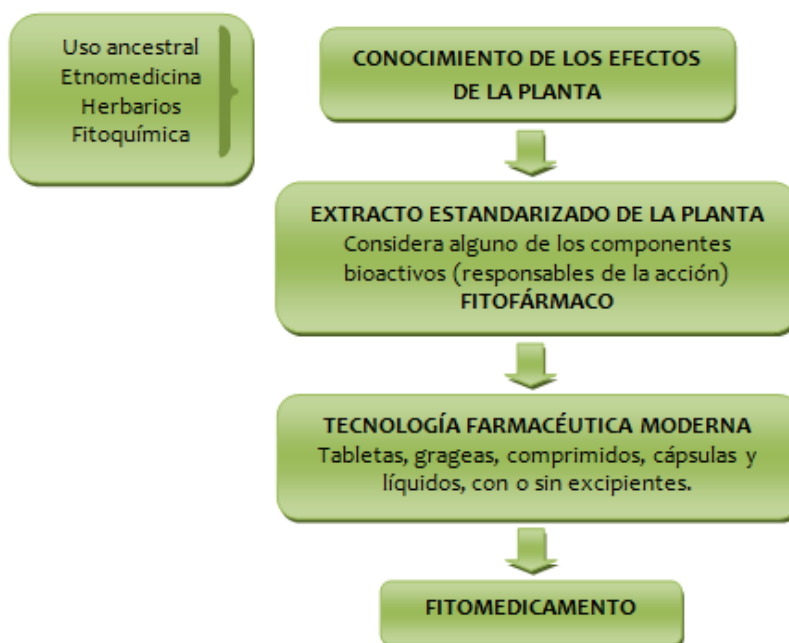


Figura 9. Fitomedicamento (10)

1.8.1 Marco legal en México

El empleo de las plantas con fines curativos data de tiempos inmemoriales; es más, hasta hace poco menos de un siglo constituyeron el principal recurso terapéutico y en la actualidad siguen formando una proporción considerable de la medicina. Algunas se utilizan como tales, tras desecación o concentración (extractos, aceites esenciales) y otras constituyen la materia prima para obtener moléculas muy activas.

A principios del siglo XX, con el desarrollo de la química y de complejos sistemas de síntesis orgánica, aparecieron medicamentos con moléculas puras, sintetizadas en el laboratorio, muchas de ellas a partir de plantas medicinales o de la purificación de éstas. Algunos vegetales también se emplean para la extracción de constituyentes inactivos que son transformados químicamente en ingredientes activos de las medicinas. Todas estas especialidades están incluidas en los medicamentos "alopáticos". Pero también hay una proporción considerable de medicinas que contienen extractos totales o impurificados de las porciones terapéuticamente activas de las plantas medicinales (hoja, raíces, semillas, etc.), principalmente porque nos e ha logrado purificar o demostrar la sustancia activa principal, o más frecuentemente porque su acción terapéutica no depende de una única sustancia, sino de la sinergia de varios componentes. Estos son los medicamentos herbolarios.



En todo el mundo, incluyendo a México, la medicina complementaria, llamada tradicional, incorpora en su arsenal terapéutico el uso de plantas medicinales cuya utilidad y método de preparación y administración se transmite muchas veces en forma oral. En poblaciones de Asia, África y Latinoamérica esta medicina principalmente herbolaria, se utiliza frecuentemente para atender las necesidades primarias de salud. En este aspecto China es probablemente el país más importante porque los médicos chinos se preparan formalmente en esta disciplina; se estima que alrededor de 40% de los habitantes de ese país, o sea más de 500 millones de personas, se atienden regularmente con este sistema.

Algunos países han organizado la medicina herbolaria y sus productos formales se han recopilado en las farmacopeas correspondientes. En Asia destaca China con 5000 años de tradición de medicina herbolaria ahora formal; en Europa, Alemania cuenta con una farmacopea herbolaria extensa. En México existe ya una Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos, publicada en el año 2001, que incluye monografías de plantas o de sus partes que se usan en los medicamentos herbolarios. Los preparados de plantas medicinales cuyo uso está avalado sólo por la tradición se regulan como remedios; estos aunque no tienen un soporte experimental están validados empíricamente.

En los últimos años los productos herbolarios han tenido un nuevo auge en el mundo occidental, incluyendo a México, debido a que el público general, e incluso algunos expertos, los consideran de acción terapéutica suave y de pocos efectos secundarios. El problema es que muchos de estos no tienen suficientes evidencias de su eficacia y seguridad, no cumplen con lo necesario para ser considerados como medicamentos y se comercializan como suplementos alimenticios, cometiendo fraudes al consumidor por ineficaces o constituyendo riesgos a la salud por posibles efectos adversos.

La proliferación de productos naturales en el comercio nacional depende sobre todo de la creencia de que son inocuos, ya que "si son naturales no pueden hacer daño". Este equívoco lo fomenta la publicidad que capitaliza la idea. Aunque el perfil de seguridad generalmente es muy favorable, algunas plantas utilizadas en la medicina tradicional poseen efectos tóxicos suficiente mente marcados para que hayan sido regulados; por ejemplo: En México en 1999 se prohibió en la elaboración de infusiones y en suplementos alimenticios el uso de 76 por su toxicidad y se indicó la leyenda precautoria "ATENCIÓN: NO DEBE CONSUMIRSE DURANTE EL EMBARAZO" para las infusiones que se elaboran con otras 9 plantas; en España en 2004 se limitó el uso de 197 plantas.

Además de los casos anteriores, los informes de fármaco vigilancia reportan con frecuencia nuevas reacciones adversas de productos herbolarios; otras fuentes también informan de



efectos indeseables y de interacciones entre los productos herbolarios y diversos medicamentos. En resumen los productos naturales pueden, en algunos casos, ser nocivos para la salud y no son necesariamente inocuos. A lo anterior se añade la incertidumbre acerca de la seguridad de aquellos que contienen plantas medicinales cuyos principios activos no se conocen bien; además las propiedades benéficas o perjudiciales de algunos componentes de productos naturales comercializados como suplementos alimenticios no se han valorado, aún por los propios fabricantes. Regulación sanitaria de los productos. (11)

1.8.1.1 Marco legal de la herbolaria

1.8.1.1.1 *Ley General de Salud (LGS)*

En el artículo 224 de la Ley General de Salud, en la clasificación de los medicamentos de acuerdo a su naturaleza, entre los que encuentran los medicamentos herbolarios. (12)

Tabla 3. Ley General de Salud. Artículo 224. B. Clasificación de los Medicamentos por su Naturaleza

- I. Alopáticos: toda sustancia o mezcla de sustancias de origen natural o sintético que tenga efecto terapéutico, preventivo o rehabilitatorio, que se presente en forma farmacéutica y se identifique como tal por su actividad farmacológica, características físicas, químicas y biológicas, y se encuentre registrado en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos para medicamentos alopáticos.
- II. Homeopáticos: toda sustancia o mezcla de sustancias de origen natural o sintético que tenga efecto terapéutico, preventivo o rehabilitatorio y que sea elaborado de acuerdo con los procedimientos de fabricación descritos en la Farmacopea Homeopática de los Estados Unidos Mexicanos, en las de otros países u otras fuentes de información científica nacional e internacional.
- III. **Herbolarios: los productos elaborados con material vegetal o algún derivado de este, cuyo ingrediente principal es la parte aérea o subterránea de una planta o extractos 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 o internacional.**



1.8.1.1.2 Reglamento de Insumos para la Salud(RIS)

En el RIS, Capítulo VI se menciona algunos requisitos para obtener el registro sanitario de un medicamento herbolario donde no se establece que deba anexarse la información científica que demuestre la eficacia y seguridad. Esto originó que hasta hace pocos años se registraran con información de su uso en algún catálogo o libro, o farmacopea de otros países como única evidencia de seguridad y eficacia, sin conocer los fundamentos científicos que la avalaran. (13)

- **Medicamentos herbolarios:**

Tabla 4. Reglamento de Insumos para la Salud. Capítulo VI. Medicamento Herbolario

ARTÍCULO 66. Los medicamentos herbolarios, además de contener material vegetal, podrán adicionar en su formulación excipientes y aditivos.

ARTÍCULO 67. No se consideran medicamentos herbolarios aquéllos que estén asociados a principios activos aislados y químicamente definidos, ni aquéllos propuestos como inyectables.

ARTÍCULO 68. En la formulación de un medicamento herbolario no podrán incluirse sustancias estupefacientes o las psicotrópicas de origen sintético, ni las mezclas con medicamentos alopáticos, procaína, efedrina, yohimbina, chaparral, germanio, hormonas animales o humanas u otras sustancias que contengan actividad hormonal o antihormonal o cualquier otra que represente riesgo para la salud.

ARTÍCULO 69. Cuando por el tamaño del Envase Primario no sea posible incluir la información señalada para la Etiqueta, se asentará únicamente lo siguiente:

- I. La Denominación Distintiva;
- II. La forma farmacéutica;
- III. La dosis y vía de administración;
- IV. Las contraindicaciones, cuando existan;
- V. La leyenda de conservación, en su caso;
- VI. El número de Lote;
- VII. La fecha de caducidad, y
- VIII. La clave alfanumérica del registro.

ARTÍCULO 70. Cuando por el tamaño del Envase Secundario no sea posible incluir la información señalada para la Etiqueta, se asentará únicamente lo siguiente:

- I. La fórmula que exprese el o los nombres botánicos en latín por género y especie, y excipiente o vehículo, según sea el caso;
- II. La Denominación Distintiva;
- III. La forma farmacéutica;
- IV. La indicación terapéutica;
- V. La dosis, vía de administración y modo de empleo;
- VI. Las reacciones adversas;
- VII. Las precauciones y contraindicaciones cuando existan;
- VIII. El uso en embarazo y lactancia;
- IX. El uso pediátrico;
- X. La fecha de caducidad, en su caso, y
- XI. La clave alfanumérica del registro.

ARTÍCULO 71. La venta y suministro de los medicamentos herbolarios que no sean ni contengan estupefacientes ni psicotrópicos, podrá realizarse en Establecimientos que no sean farmacias.



- **Remedios Herbolarios**

Tabla 5. Reglamento de Insumos para la Salud. Capítulo Único. Remedios Herbolarios

ARTÍCULO 88. Se considera Remedio Herbolario al preparado de plantas medicinales, o sus partes, individuales o combinadas y sus derivados, presentado en forma farmacéutica, al cual se le atribuye por conocimiento popular o tradicional, el alivio para algunos síntomas participantes o aislados de una enfermedad.

Los Remedios Herbolarios no contendrán en su formulación sustancias estupefacientes o psicotrópicas ni ningún otro tipo de fármaco alopático u otras sustancias que generen actividad hormonal, antihormonal o cualquier otra sustancia en concentraciones que represente riesgo para la salud.

ARTÍCULO 89. Las plantas utilizadas como materia prima para elaborar Remedios Herbolarios, deberán someterse a tratamientos para abatir la flora microbiana que las acompaña, de acuerdo con las Normas que se emitan al respecto o con las especificaciones internacionales correspondientes.

ARTÍCULO 90. La fabricación de los Remedios Herbolarios deberá realizarse en condiciones que eviten la contaminación microbiológica de sus ingredientes.

ARTÍCULO 95. Cuando la Secretaría tenga conocimiento de que una planta o mezcla de ellas muestra indicios de efectos tóxicos o acumulativos, o cualquier otro riesgo para la salud, podrá prohibir la importación, elaboración, almacenamiento, distribución y venta del Remedio Herbolario que las contenga.

ARTÍCULO 96. *La venta y suministro al público de los Remedios Herbolarios serán de libre acceso.* Le corresponde a la Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) regular la herbolaria, a través del departamento de evaluación de herbolarios, homeopáticos y medicamentos herbolarios, y al área de dispositivos médicos.



1.9 ACEITE DEL ÁRBOL DEL TÉ (AAT)

1.9.1 *Melaleuca alternifolia*

El árbol del té australiano (*Melaleuca alternifolia*) es un árbol utilizado desde hace milenios por aborígenes australianos con finalidad medicinal. Actualmente se emplea su aceite esencial, que destaca por sus propiedades antibacterianas, antifúngicas, antivirales y antiinflamatorias, entre otras.

El árbol de té australiano, o simplemente árbol del té, es la especie *Melaleuca alternifolia* de la familia de las Mirtáceas. Se trata de un árbol que no supera los 6 m de altura, con hojas estrechas, dispuestas en forma alterna, flores blancas en ramillete, con estambres reunidos en la base en cinco grupos. Se trata de una planta originada de Australia, donde se cultiva para la obtención de aceite esencial.

El Aceite Esencial del Árbol del Té (AAT) o *Melaleuca alternifoliae aetheroleum* conocido también como aceite de melaleuca, es un líquido incoloro o amarillo pálido que se obtiene de las hojas y ramas tiernas por destilación en corriente de vapor de agua. Una vez condensada, la fase clara del aceite de color amarillo pálido se separa de la destilación acuosa. El rendimiento de aceites es típicamente de 1 a 2% del peso húmedo de material vegetal. (14)



Fig 10. *Melaleuca alternifolia* (45)

1.9.2 Propiedades

- Densidad relativa: 0.885 a 0.906
- Solubilidad: escasamente soluble en agua y miscible con solventes no polares
- Índice de refracción: 1.475 a 1.482
- Rotación óptica: +5° a +15° (15)

1.9.3 Composición

El AAT está compuesto por hidrocarburos terpénicos, principalmente monoterpenos, sesquiterpenos, alcoholes y sus asociados. Los terpenos son hidrocarburos volátiles, aromáticos y pueden ser considerados polímeros de isopreno, que tienen la fórmula C_5H_8 . El componente mayoritario es el terpinen-4-ol, alcohol monoterpénico cuyo porcentaje supera el 30% y suele situarse alrededor del 40% aunque puede alcanzar el 48%. Le siguen γ -terpineno y α -terpineno. Para el 1,8- cineol se exige un máximo del 15%. (16,17)

Los principales componentes y sus rangos de concentración aceptables de acuerdo con la norma ISO correspondiente se resumen a continuación. (14)

Tabla 6. Composición del aceite esencial del árbol del té *Melaleuca alternifolia*: rangos (%) aceptables para los principales componentes según la norma ISO 4730 (17)

| Componente | % | Componente | % |
|------------------------|-----------|---------------------|-------------|
| Terpinen-4-ol | ≥ 30 | α -Terpineol | 1.5-8 |
| γ -Terpineno | 10-28 | Acromadendreno | Trazas-7 |
| α -Terpineno | 5-13 | δ -Cardineno | Trazas -8 |
| 1,8-Cineol(eucaliptol) | ≤ 15 | Limoneno | 0.5-4 |
| Terpinoleno | 1.5-5 | Sarbineno | Trazas -3.5 |
| p -Cimeno | 0.5-12 | Globulol | Trazas -3 |
| α -Pinoeno | 1-6 | Viridiflorol | Trazas -1.5 |

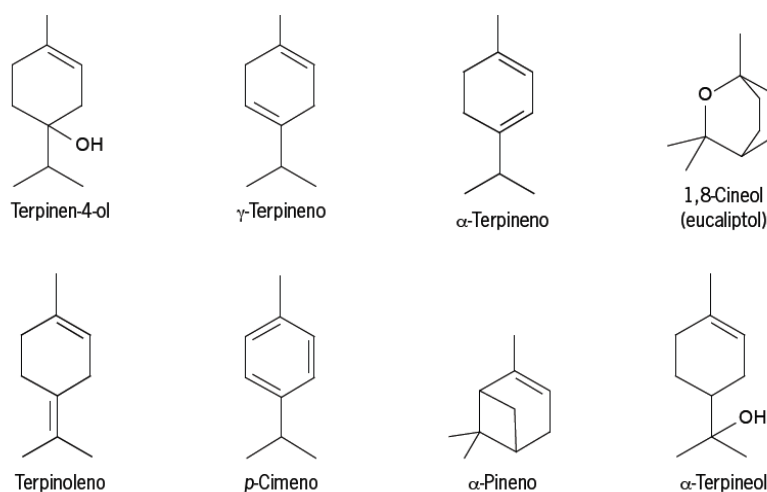


Fig 11. Principales componentes del aceite esencial de *Melaleuca alternifolia*. (14)



Teniendo en cuenta la variación entre lote y lote de producción, la composición del AAT es regulado por una estándar internacional para "Aceite de *Melaleuca* tipo terpineno-4-ol" que establece los máximos y los mínimos de 14 componentes del aceite (Ver tabla 6). Cabe destacar que la norma no establece las especies de *Melaleuca* de la cual el AAT es obtenido. En su lugar establece criterios físicos y químicos para el quimiotipo deseado. Seis variedades o quimiotipos de *M. alternifolia* se han descrito, cada uno con una composición química distinta. Estos incluyen un quimiotipo terpineno-4-ol, un quimiotipo terpinoleno y cuatro quimiotipos 1,8-cineol. (18)

El quimiotipo terpineno-4-ol típicamente contiene niveles de terpineno-4-ol entre 30 a 40 % y es el quimiotipo empleado en la producción comercial de AAT. A pesar de la variabilidad inherente del AAT comercial no se han observado diferencias obvias en su bioactividad *In Vivo*. Los componentes especificados por la norma internacional fueron seleccionados por varias razones incluyendo la verificación de procedencia y la actividad biológica. Con la actividad biológica, la actividad antimicrobiana de AAT se atribuye principalmente al terpineno-4-ol, el componente principal del aceite. En consecuencia para optimizar la actividad microbiana, se ha establecido un límite inferior de 30%, para el contenido de terpineno-4-ol, aunque no un límite superior. Por el contrario un límite máximo de 15% y un límite inferior se establecieron para el 1-8-cineol, aunque la razón de esto no ha sido del todo buena, ya que durante muchos años el cineol fue erróneamente considerado como irritante de la piel y membranas mucosas, impulsando los esfuerzos por minimizar al máximo su nivel. Datos más recientes no indican que el 1-8 cineol sea un irritante. (18, 19)

1.9.4 Estabilidad

La estabilidad del AAT cambia particularmente en presencia del oxígeno atmosférico pero también cuando el aceite es expuesto a la luz y a las altas temperaturas. Los niveles de α -terpineno, γ -terpineno y terpinoleno disminuyen, mientras que los niveles de ρ -cimeno incrementan hasta diez veces. Los procesos de oxidación conducen a la formación de peróxidos, endoperóxidos y epóxidos. Las principales vías de oxidación y degradación se muestran en la figura 12. (20)

1.9.4.1 Estudio de estabilidad

Se llevó a cabo un estudio de estabilidad con AAT diluido durante 12 meses. Dos lotes de AAT fueron almacenados por duplicado (4 muestras totales) en frascos ámbar de 100 mL con tapas de rosca de polipropileno a 22°C en una gaveta lejos de fuentes de calor y luz. Cada semana los frascos fueron abiertos para permitir la exposición a la atmosfera. Mensualmente 5.61 mL fueron muestreados de cada frasco para analizar la composición por cromatografía de gases y el índice de peróxido. Durante el muestreo los frascos se dejaron abiertos y en contacto con la atmosfera y expuestos a la luz por un minuto. Los frascos fueron cerrados a continuación y devueltos al sitio de almacenamiento. La composición del aceite se mantuvo prácticamente sin cambios durante los 6 primeros meses. Después de este tiempo hubo un aumento de los niveles de *p*-cimeno y una ligera tendencia a la baja de los niveles de α -terpineno. Sin embargo los niveles de *p*-cimeno fueron todavía menos de un 6.7% tras 12 meses de prueba. Del mismo modo el índice de peróxido fue de 5 miliequivalentes O₂ o menos durante los primeros 6 meses y no superior a 8.6 miliequivalentes de O₂ para el final de la prueba. Esto indicó que no hubo oxidación apreciable/ degradación del aceite por lo menos en 12 meses bajo estas condiciones. No hubo niveles detectables de 1,2,4-trihidroximetano presentes en las muestras de aceite en cualquiera de los tiempos de muestreo. (21)

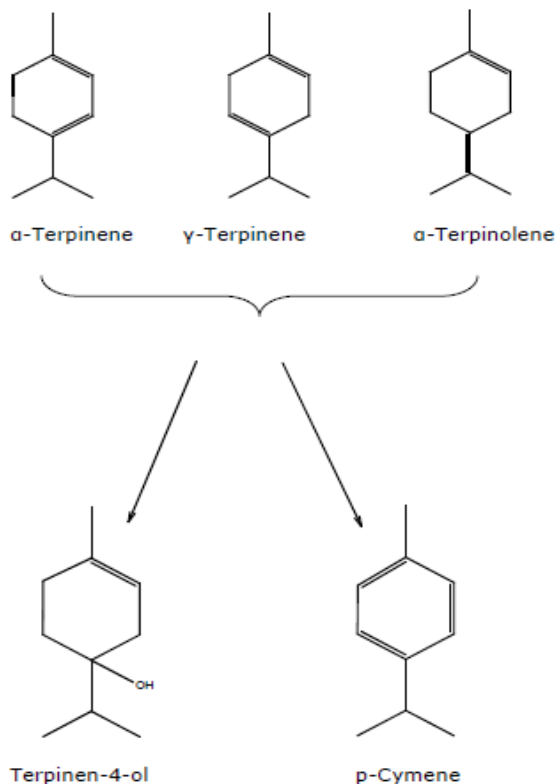


Fig 12. Productos finales de la hidrólisis y oxidación de los componentes del AAT (20)



1.9.5 Actividad antimicrobiana *in vitro*

De todas las propiedades atribuidas al AAT, su actividad antimicrobiana ha sido la mayor estudiada. Los aborígenes Bundjalung del norte de New South Wales, aprovecharon esta propiedad cuando usaban hojas trituradas del árbol del té australiano para el tratamiento de tos y resfriado, en forma de inhalaciones, o para curar heridas, colocándolas sobre las mismas. Las infusiones de hojas se utilizaban para tratar el dolor de garganta y diversas afecciones dérmicas. La utilización del aceite esencial no se popularizó hasta el primer tercio del siglo pasado, tras las primeras publicaciones que describieron su actividad antimicrobiana. (22, 23)

El uso del aceite en sí, en comparación con el material vegetal no extraído, no se convirtió en práctica común hasta que Penfold publicó los primeros informes de su actividad antimicrobiana de una serie de artículos en los años 1920 y 1930. Al evaluar la actividad antimicrobiana del aceite de *Melaleuca alternifolia* y otros aceites, hizo comparaciones con el ácido carbólico o desinfectante fenol, en una prueba conocida como coeficientes Rideal-Walker (RW). La actividad del AAT fue comparada directamente con la del fenol y se clasificó como 11 veces más activo. Los coeficientes RW de varios componentes de AAT también fueron reportados incluyendo 3.5 para cineol y 8 para cymeno, 13 para linaliol y 13.5 para terpineno -4-ol y 16 para terpineol. Como resultado el AAT se promovió como agente terapéutico. Estas publicación como muchas otras describen el rango de usos medicinales del AAT. La evidencia que se proporciona de las propiedades medicinales del AAT, se considera meramente anecdotal.

Actualmente, se conoce el amplio espectro de la actividad de AAT, que no solo presentan actividad antibacteriana y antifúngica, sino también antiviral y antiprotozoaria. Adicionalmente, se ha descrito actividad antiinflamatoria y antioxidante.

En cuanto a los compuestos responsables de las actividades antibacterianas y antifúngicas se considera que el terpineno-4-ol y el α -terpineol ejercen una contribución sustancial a las mismas. Sin embargo otros componentes del aceite esencial como α -terpineno, β -pineno y linalol, aun estando en proporciones menores, pueden contribuir a la actividad antimicrobiana. Por el momento no se han escrito claramente la existencia de sinergia entre los constituyentes del AAT. (24)



1.9.6 Actividad antibacterial

Se han realizado numerosos estudios sobre la actividad bacteriana del AAT, especialmente a partir de 1990. El AAT se ha ensayado sobre de un amplio número de bacterias. Para la mayoría de ellas la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) es inferior o igual al 1% (v/v); MICs superiores al 2% se han descrito solamente para microorganismos como estafilococos y micrococos, *Enterococcus faecalis* y *Pseudomonas aeruginosa*. El AAT actúa mayormente como bactericida, aunque puede actuar como bacteriostático en bajas concentraciones. (Ver Tabla 9). (24,25)

Adicionalmente, el AAT ha resultado ser activo frente algunas bacterias resistentes a antibióticos, en particular frente a *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (MRSA) y en algunos casos a mupirocina con MICs del 0.25% al 0.31% y concentraciones bactericidas mínimas (MBCs) del 0.5% al 0.625%. Por otra parte también se ha demostrado que el AAT en aerosol puede inhibir el crecimiento de bacterias como *Mycobacterium avium*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pyogenes* y *Streptococcus pneumoniae*.(26,27)

Diversos estudios han descrito que diversos microorganismos asociados a vaginosis bacteriana (*Bacteroides* spp, *Prevotella* sp, *Fusobacterium* sp, *Gardnerella vaginalis*), son mas susceptibles a la acción AAT que los lactobacilos simbióticos comensales. Ello sugiere el uso de AAT, por su selectividad puede tener ventajas clínicas en el tratamiento de vaginosis bacteriana. (28)

Tabla 9. Susceptibilidad bacteriana del aceite esencial del árbol del té (AAT). Especies bacterianas clasificadas según su MIC de AAT (28)

| MICs ≤ 1% (v/v) | MICs > 1% (v/v) |
|--------------------------------------|---------------------------------|
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | <i>Corynebacterium</i> sp |
| <i>Actinomyces viscosus</i> | <i>Enterococcus faecalis</i> |
| <i>Actinomyces</i> spp | <i>Escherichia coli</i> |
| <i>Bacillus cereus</i> | <i>Lactobacillus</i> spp |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | <i>Proteus vulgaris</i> |
| <i>Micrococcus luteus</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| <i>Porphyromonas endodontalis</i> | <i>Staphylococcus epidermis</i> |
| <i>Prevotella</i> spp | <i>Streptococcus pyogenes</i> |
| <i>Propionibacterium acnes</i> | |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | |
| <i>Staphylococcus hominis</i> | |
| <i>Veillonella</i> spp | |



1.9.7 Mecanismo de acción antibacteriano

La actividad antibacteriana del AAT se conoce parcialmente. Se ha relacionado principalmente a su capacidad de interactuar con la membrana bacteriana y perturbar su integridad y sus funciones vitales, que daría lugar a la pérdida de material intracelular, la incapacidad de mantener la homeostasis y la inhibición de la respiración, observados tras el tratamiento de AAT o sus componentes en diversas especies bacterianas. Esta premisa se ve apoyada por datos que muestran que el AAT permeabiliza el sistema liposomal. En trabajos previos con carbohidratos no encontrados en AAT y con terpenos encontrados a bajas concentraciones en AAT, la lisis y la pérdida de integridad de la membrana y la función manifestada por la fuga de iones y la inhibición de la respiración fueron demostradas. (29)

En *E.coli* se han observado efectos perjudiciales sobre la homeostasis, la respiración dependiente de la glucosa y la morfología. En contraste con la ausencia de lisis celular observada en *S.aureus* tratada con AAT, la lisis ocurre en *E.coli* tratada con AAT. Todos estos efectos confirman que el AAT compromete la integridad estructural y funcional de las membranas bacterianas. (30)

La pérdida de la viabilidad, la inhibición de la glucosa dependiente de la respiración y la inducción de la lisis vista después del tratamiento con AAT, todos ocurriendo con un mayor grado en microorganismos en fase de crecimiento exponencial que en microorganismos con fase de crecimiento estacionario. El incremento de la vulnerabilidad de la actividad de crecimiento celular fue aparentemente en mayor grado en los cambios en la morfología vista en estas células en el microscopio electrónico. (31)

Cuando se estudiaron los efectos del terpinen-4-ol, α -terpineol, y 1-8-cineol en *S. aureus* no se encontraron datos que indicaran que se produce autólisis, sin embargo si se demostró encontró que provocan la fuga de material absorbente, lo que hace que las células sean sensibles al cloruro de sodio. Interessantemente los mayores efectos se observaron a 1,8-cineol, un componente consideradamente frecuentemente con actividad antimicrobiana marginal. Esto aumenta la posibilidad de que si bien el cineol no es uno de los principales componentes antimicrobianos del AAT, si puede permeabilizar las membranas bacterianas y facilitar la entrada de otros componentes más activos. (32)



1.9.8 Componentes antimicrobianos del AAT

Se ha prestado mucha atención a cuales componentes del AAT son responsables de la actividad antimicrobiana. Resultados recientes de los coeficientes de RW demuestran que gran parte de la actividad del AAT es atribuida a terpineno-4-ol y a α -terpinol. Datos disponibles actualmente confirman que estos dos componentes contribuyen sustancialmente a las actividades antifúngicas y antibacteriales de los aceites con MICs, MBCs y MFCs que son generalmente las mismas que, o ligeramente inferiores a los valores obtenidos para AAT. Sin embargo el α -terpinol no representa una proporción significativa en el aceite. Componente adicionales con MICs bajas o similares a AAT incluyen al α -pineno, β -pineno y linalol, pero igual que en el caso de α -terpinol, estos componentes solo están presentes en bajas cantidades.

De los componentes restantes que se probaron, parece que la mayoría poseen al menos algún grado de actividad antimicrobiana, y se cree que esto se correlacionan con la presencia de grupos funcionales, tales como alcoholes, y la solubilidad de los componentes en membranas biológicas. Mientras que algunos componentes del AAT pueden considerarse como menos activos, ninguno puede ser considerado inactivo. (16,18)

La posibilidad de que los componentes del AAT pueden tener interacciones sinérgicas o antagónicas se ha estudiado In vitro pero no se encontraron relaciones significativas. La posibilidad de que el AAT puede actuar sinérgicamente con otros aceites esenciales, como la lavanda, y otros componentes de aceites esenciales, tales como β -trictonas del aceite de manuka, también han sido investigados. (33)

1.9.9 Resistencia a AAT

La resistencia clínica al AAT no ha sido reportada a pesar del uso medicinal del aceite en Australia desde 1920. Ha habido un breve informe de la resistencia In Vitro inducida por AAT en *S. aureus*. La exposición gradual de cinco cepas de MRSA a concentraciones crecientes de AAT produjo tres cepas con CMI 1% de AAT y una cepa con CMI de 2% y 16% de AAT respectivamente. Todas las cepas mostraron CMI inicial de 0.25%.

En general los estudios demuestran poca evidencia de que la resistencia a AAT pueda ocurrir ya sea In vitro o In vivo, aunque pocos datos están disponibles. Es probable que la naturaleza de los multicomponentes del AAT pueda reducir el potencial para la resistencia que ocurre espontáneamente, ya que múltiples mutaciones simultáneas puede ser necesaria para superar todas las acciones antimicrobianas de cada uno de los componentes. Además,



puesto que se sabe que el AAT afecta múltiples propiedades y funciones asociadas a la membrana celular, , de forma similar al caso de la membrana activos biocidas. Esto significa que numerosos objetivos se tienen que adaptarse para superar los efectos del aceite. Los problemas de la resistencia potencial son importantes si el AAT se va a usar más ampliamente, en particular contra microorganismos resistentes a antibióticos. (34,35)

1.9.10 Seguridad y toxicidad

A pesar de los avances en la caracterización de las propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias de aceite de árbol de té, pocos trabajo se han realizado sobre la seguridad y toxicidad del aceite. La justificación para el uso frecuente del aceite se basa en gran medida a la aparentemente inocuidad del aceite durante casi 80 años. La evidencia anecdótica sugiere que durante este tiempo que el uso tópico es seguro y que los eventos adversos son leves, autolimitados, y poco frecuentes. Las toxicidades orales y dérmicas del AAT se resumen brevemente a continuación.

Los datos de toxicidad indican que el AAT puede dar efectos tóxicos si se ingiere a altas dosis y que puede dar lugar a irritaciones dérmicas a altas concentraciones. Las reacciones alérgicas al AAT se dan solamente en individuos sensibilizados y pueden ser debidos a diversos productos de oxidación que se formarían por exposición del aceite esencial a la luz y/o al aire. No se recomienda el uso de productos a base de AAT en personas con alergia conocida al mismo o a plantas de la familia de Mirtáceas.

Las reacciones adversas pueden minimizarse si se evita la ingestión del aceite esencial, por vía tópica debe utilizarse solamente aceite esencial diluido y si se emplea solamente aceite esencial que haya sido correctamente almacenado y conservado. (36)

1.9.10.1 Toxicidad dermal

El AAT puede causar reacciones alérgicas e irritantes. Un valor medio de 0.25 ha sido encontrado para el AAT basado en los resultados de 311 voluntarios. Otro estudio en el cual 217 pacientes de una clínica dermatológica fueron probados con 10% de AAT y no se encontraron reacciones irritantes. Dadas las reacciones irritantes, pueden ser evitadas con frecuencia mediante el uso de bajas concentraciones de la sustancia irritante, esto ayuda a promover el uso de productos bien formulados. Las reacciones alérgicas han sido reportadas y aunque una amplia gama de componentes se han sugerido como responsable, estudios recientes indican que las reacciones son causadas principalmente por los productos de



oxidación que se producen en los aceites viejos o almacenados de manera inadecuada. Existe poca evidencia científica de que 1,8-cineol es el componente que causa de mayor irritación en el AAT. No hay evidencia de que se haya observado irritación cuando la prueba del parche se realizó en conejos con la piel intacta y limpia, conejillos de indias, y los seres humanos, incluyendo los que tenían antecedentes de reacciones positivas al AAT. En raras ocasiones, se ha reportado que la aplicación tópica de aceite de árbol de té causa efectos sistémicos en los animales domésticos. La aplicación dérmica de aproximadamente 120 mL de AAT sin diluir tres gatos con la piel afeitada, pero intacta, dio como resultado síntomas de hipotermia, descoordinación, deshidratación y temblores, y la muerte de uno de ellos. (37).

1.9.11 Problemas en la formulación

Las características físicas del AAT presentan ciertas dificultades para la formulación y el envasado de productos. Su lipofilia conduce a problemas de miscibilidad con productos a base de agua, mientras que su volatilidad significa que el envase debe proporcionar una barrera adecuada para evitar la volatilización. Así mismo el AAT se absorbe rápidamente en los plásticos, por lo que los envases deberán minimizar este efecto. (15)



1.10 ACEITES PORTADORES

Los aceites portadores son aceites vegetales puros y sin refinar que se usan para diluir los aceites esenciales que son empleados para estar en contacto con la piel, ya que los aceites esenciales son demasiado concentrados para ser utilizados sin diluir. No deben usarse aceites minerales, ya que no penetran en la piel, además, pueden inhibir o debilitar la acción de los aceites esenciales. La función de estos aceites portadores es ayudar a la absorción de los aceites esenciales, deben ser ricos en ácidos grasos naturales y pueden incluir vitaminas A y E, que en sí mismas sirven para nutrir y regenerar la piel.

Principales aceites portadores:

- **Aceite de aguacate.** Es uno de los aceites portadores con mayor capacidad de penetración. Es ideal para pieles secas y curtidas. Es muy nutritivo y con un alto contenido en vitaminas y minerales, como la A, la E y las del complejo B. Si se desea aumentar al máximo el poder de penetración, debe añadirse un 10% de este aceite a la leche de almendras o al aceite de pepitas de uva. Es bueno para masajear tejidos grasos.
- **Aceite de semillas de uva.** Su consistencia es sumamente fina, por lo que resulta muy fácil de extender, siendo por ello adecuado para el masaje y como aceite portador de uso general. No tiene un aroma peculiar, por lo que no modifica ni enmascara el de los aceites esenciales con los que se mezcla. Es muy adecuado para mezclar con los aceites aromáticos de nota alta. Su ligereza facilita la penetración de las esencias a través de la piel sin dejar residuos aceitosos. Es barato.
- **Aceite de semillas de albaricoque.**
- **Aceite de almendras dulces o leche de almendras.**
- **Aceite de avellanas.**
- **Aceite de caléndula.**
- **Aceite de coco.**
- **Aceite de germen de trigo.**
- **Aceite de sésamo.**
- **Aceite de yoyoba (jojoba).** (38)



2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El uso de las plantas con fines terapéuticos en la medicina tradicional es un importante legado que se ha transmitido de generación en generación. Existen innumerables sustancias químicas vegetales que pueden considerarse fármacos y son empleados en uno o más países, de las cuales una gran parte han sido descubiertas a partir de su empleo en medicina tradicional. Esto nos brinda la oportunidad de encontrar nuevos agentes activos desde el punto de vista farmacológico, a partir de una fuente prima natural: las plantas medicinales.

Actualmente es enorme la difusión y popularidad de la fitoterapéutica en el mundo. Se aconsejan ya no como alternativas en los servicios de salud, sino como primera intención para diversas afecciones, antes de pasar a otros medicamentos más agresivos.

En este contexto podemos referirnos a numerosos estudios sobre los aceites esenciales, en los cuales se destaca su gran utilidad en diversas áreas tales como la fabricación de los perfumes, productos cosméticos, saborizantes, en la industria farmacéutica, etc. Varios estudios reportan acerca de las diferentes actividades biológicas que presentan los aceites esenciales, tales como insecticidas, antioxidante, y efecto antibacteriano. (16)

Uno de estos aceites es el del árbol del té (*Melaleuca alternifolia*) el cual ha demostrado en diversos estudios científicos presentar actividad antibacteriana frente a *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aureginosa*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*(14), actividad antimicótica especialmente efectiva contra *Candida albicans* (15), actividad antiviral frente a Herpes y actividad antiinflamatoria (14). Así mismo, estudios han demostrado que los terpenoides son los principales contribuyentes de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales, el aceite del *Melaleuca alternifolia* (Tea tree) que está compuesto, entre otras cosas, por α -terpineol, linalol y terpinen-4-ol, ha demostrado tener efectiva actividad antimicrobiana. Actualmente se propone como posible sitio de acción la membrana celular donde los terpenoides ejercen efecto desencadenando una serie de procesos que dañan la membrana y por lo tanto causan la muerte bacteriana. De importancia también es mencionar que la resistencia de los microorganismos a los fármacos existentes tiende a incrementarse, razón por la cual se mantiene la necesidad de buscar nuevos agentes antimicrobianos que combatan infecciones y superen los problemas de resistencia bacteriana, así como los efectos secundarios de algunos fármacos disponibles actualmente. (17,18)

Es por ello que en el siguiente proyecto se desarrollara una formulación fitoterapéutica tópica que contenga Aceite Esencial del Árbol del Té (*Melaleuca alternifolia*) para uso antibacterial a partir de estudios previos de preformulación.



3. OBJETIVO

3.1 **Objetivo general**

Desarrollar una formulación fitoterapéutica tópica de *Melaleuca alternifolia* (árbol del té).

3.2 **Objetivos específicos**

1. Llevar a cabo el estudio de preformulación para evaluar las características físicas, químicas y fisicoquímicas del principio activo (aceite esencial del árbol del té), así como su estabilidad y compatibilidad con diferentes excipientes.
2. Seleccionar la forma farmacéutica para la administración del principio activo (aceite esencial del árbol del té), en base a la etapa de preformulación.
3. Implementar un método para evaluar el efecto antibacterial del principio activo (aceite del árbol del té), dentro de la formulación.
4. Evaluar y seleccionar a través del ciclaje, el material de envase tentativo que mantenga la estabilidad de la formulación final.

4. HIPOTESIS

Al llevar a cabo el estudio de preformulación en las etapas de caracterización del principio activo (aceite esencial del árbol de té), estabilidad en condiciones aceleradas y compatibilidad con diferentes excipientes, se podrá seleccionar la forma farmacéutica que mejor se adecue a las propiedades del principio activo y establecer una formulación que cumpla con los estándares de calidad del producto.



5. DISEÑO EXPERIMENTAL

5.1 MATERIAL

5.1.1 Material

- Vasos de precipitado (50 mL, 150 mL, 250 mL, 600 mL, 1000 mL) (Pyrex®)
- Matraces Erlenmeyer (25 mL, 250 mL, 500 mL) (Pyrex®)
- Matraces volumétricos (50 mL, 100 mL, 250 mL, 1000 mL) (Pyrex®)
- Pipetas graduadas (1 mL, 5 mL, 10 mL) (Pyrex®)
- Pipetas volumétricas (1 mL, 5 mL) (Pyrex®)
- Vasos de vidrio de 5.5 cm x 4 cm (Kimax®)
- Varillas de vidrio de 20 cm
- Tubos de vidrio de 30 cm
- Soporte universal
- Placa cuadrada de vidrio 20 cm x 20 cm
- Placa cuadrada de vidrio graduada con circunferencias 20 cm x 20 cm
- Cajas Petri (Pyrex®)
- Cajas Petri con tapa de porcelana (Pyrex®)
- Probetas (10 mL, 25 mL, 250 mL, 1000 mL) (Kimax®)
- Vidrios de reloj
- Portaobjetos (Corning®)
- Tiras de pH (0-14) (Merk®)
- Pipetas pasteur
- Penicilindros
- Mechero Fisher
- Asa bacteriológica
- Tubos de ensayo (Pyrex®)
- Pinzas dobles
- Agitador magnético
- Agitador de vidrio
- Pesa de 500 g
- Picnómetro 25 mL (Kimax®. Mod 15123R25)



5.1.2 Instrumentos

- Termómetro -10°C a 150°C (BRANAN®)
- Potenciómetro (COLE PARMER®. Mod. 60061)
- Balanza analítica (OHAUS®. Mod. AS120)
- Balanza granataría (OHAUS®. Mod. Harvard Trip)
- Espectrofotómetro (BARNSTEAD-TURNER®. Mod. SP-830)
- Cronómetro (SAMSUNG®. Mod. GT-S5230)
- Refractómetro (ATAGO®. Mod. 1T)

5.1.3 Equipo

- Parrilla de agitación y calentamiento (THERMO SCIENTIFIC®. Mod. SP131015)
- Estufa de estabilidad acelerada 60°C (CAISA®. Mod. TN024PTR)
- Estufa de calentamiento (MAPSA®. Mod. HDP-334)
- Refrigerador (TORREY®)
- Mezclador planetario (ERWEKA®. Mod. AR400)
- Autoclave (Sin marca)
- Incubadora (FELISA®)
- Lámpara UV (UVP®. Mod. UVGL-25)

5.1.4 Material biológico

- Microorganismo de prueba (*Sarcina lutea*)



5.1.5 Reactivos y materias primas

- Aceite esencial del árbol del té (*Melaleuca alternifolia*)(CONIE BOGART®)
- Aceite portador
- Emoliente 1
- Emoliente 2
- Emoliente 3
- Conservador
- Antioxidante
- Tensoactivo 1
- Tensoactivo 2
- Tensoactivo 3
- Silica gel (MERK®. Lot. 7631869)
- Acetato de etilo (MEYER®. Lot. P010009)
- Tolueno (JT BAKER®. Lot. L39212)
- Yodo (JT BAKER®. Lot. M32476)
- Éter dietílico (MEYER®. Lot. Z0511267)
- Etanol (MEYER®. Lot. B0810407)
- Hidróxido de potasio (MEYER®. Lot. M8754379)
- Fenoltaleina (CTR SCIENTIFIC®. Lot. 95678)
- Ácido clorhídrico (MEYER®. Lot. C0110041)
- Anaranjado de metilo (CTR SCIENTIFIC®. Lot. 94687)
- Éter de petróleo (JT BAKER®. Lot. B05060)
- Ácido acético (MERK®. Lot. 1715850)
- Medio de cultivo No. 11 (BD®. Lot. 9387051. Cad. 18-May-13)
- Agar soya tripticaseina (BD®. Lot. 9889062. Cad. 15-Jun-14)
- Agar papa dextrosa (BD®. Lot. 9893072. Cad. 05-Sep-15)
- Fosfato monobásico de potasio (JT.BAKER®. Lot. B82801)
- Cloruro de sodio (MEYER®. Lot. L1210657)
- Ampicilina sódica(BRISTOL MYERS SQUIBB®. Lot. MS4823. Cad. Sep-13)
- Parafina líquida (DROGUERIA COSMOPOLITA®. Lot. 76853)



5.2 Preparación de reactivos

5.2.1 Mezcla de AAT al 8%

Diluir 8 mL de AAT en 100 mL de aceite portador 2.

5.2.2 Mezcla Tolueno-Acetato de etilo (85:15)

Preparar 50 mL de mezcla, colocar en un frasco de boca ancha 42.5 mL de Tolueno y 7.5 mL de Acetato de etilo, mezclar. Mantener perfectamente cerrado hasta el momento de su uso.

5.2.3 Mezcla etanol: éter dietílico (1:1)

Preparar 50 mL de mezcla, colocar en un frasco ámbar de vidrio 25 mL de etanol y 25 mL de éter dietílico, mezclar. Mantener perfectamente cerrado hasta el momento de su uso.

5.2.4 SI Fenolftaleína

Disolver 1g de fenolftaleína en 100 mL de alcohol.

5.2.5 SV Hidróxido de potasio 0.1 N en alcohol

En un matraz volumétrico de 1000 mL disolver 6.8 g de hidróxido de potasio en 4 mL de agua y llevar a volumen con metanol. Dejar reposar la solución durante 24 h en un envase bien cerrado; transcurrido este tiempo decantar rápidamente el líquido claro sobrenadante o filtrar y guardar en un envase de polietileno adecuado.

Valorar la solución como se indica a continuación: medir 25 mL de SV de ácido clorhídrico 0.1 N, llevarlos a un matraz Erlenmeyer, agregar 50 mL de agua y 2 gotas de SI fenolftaleína. Titular con solución de hidróxido de potasio en metanol hasta vire color rosa permanente. Calcular la normalidad, considerando que cada mililitro de SV de ácido clorhídrico 0.1 N es equivalente a 5.612 mg de KOH

5.2.6 SV Ácido clorhídrico 0.1 N

En un matraz volumétrico de 1000 mL depositar 200 mL de agua, agregar lentamente 8.5 mL de ácido clorhídrico. Enfriar a temperatura ambiente y llevar a volumen con agua.



Valorar la solución como se indica a continuación: disolver 100 mg de carbonato de sodio anhidro (secar previamente a 270°C durante 1 h), en 20 mL de agua y mezclar hasta disolución completa, agregar 0.1 mL de SI de anaranjado de metilo y titular con la SV de ácido clorhídrico hasta vire a amarillo rojizo. Calentar a ebullición y continuar la titulación hasta que el color amarillo rojizo no desaparezca. Calcular la normalidad considerando que cada mililitro de SV de ácido clorhídrico 0.1 N es equivalente a 5.30 mg de Na_2CO_3 anhidro.

5.2.7 SI Anaranjado de metilo

Disolver 1 g de anaranjado de metilo en 100 mL de alcohol.

5.2.8 SV Hidróxido de potasio en alcohol 0.5N

En un matraz volumétrico en 1000 mL disolver 34 g de hidróxido de potasio en 50 mL de agua y llevar al aforo con alcohol libre de aldehídos. Dejar reposar en un envase de plástico cerrado durante 24 h. Posteriormente decantar rápidamente el líquido sobrenadante claro a un envase apropiado bien cerrado y protegido de la luz.

Valorar la solución como se indica a continuación: medir 25 mL de SV de ácido clorhídrico 0.5N, diluir con 50 mL de agua y agregar 2 gotas de SI de fenolftaleína. Titular con la solución de hidróxido de potasio preparada en alcohol, hasta el vire color rosa claro permanente.

Calcular la normalidad o molaridad, considerando que cada mililitro de SV de ácido clorhídrico 0.5 N, es equivalente a un mililitro de solución de hidróxido de potasio 0.5N en alcohol, o que cada mililitro de solución 0.5N de ácido clorhídrico es equivalente a 28.05 g de KOH.

5.2.9 SV Ácido clorhídrico 0.5N

En un matraz volumétrico de 1000 mL, depositar 40 mL de agua, agregar lentamente 43 mL de ácido clorhídrico. Enfriar a temperatura ambiente y llevar a volumen con metanol.

Valorar la solución como se indica a continuación: pesar cuidadosamente 50 mg de carbonato de sodio (secar previamente a 270°C durante 1h), añadir 100 mL de agua y mezclar hasta disolución completa, agregar 2 gotas SI de rojo de metilo y titular con la solución de ácido clorhídrico 1 N con agitación constante hasta que el color rosa pálido de la solución no desaparezca al calentarla a ebullición durante 2 min. Calcular la normalidad o molaridad



considerando que cada mililitro de ácido clorhídrico 1N es equivalente a 52.99 mg de carbonato de sodio anhidro.

5.2.10 Mezcla éter de petróleo-parafina líquida (95:5)

Preparar 50 mL de mezcla, colocar en un frasco de boca ancha 47.5 mL de éter de petróleo y 2.5 mL de parafina líquida, mezclar. Mantener perfectamente cerrado hasta el momento de su uso.

5.2.11 SI almidón soluble

Mezclar 1 g de almidón soluble con 10 mg de yoduro mercúrico rojo y suficiente agua fría para hacer una pasta fina, agregar 200 mL de agua en ebullición y dejar hervir durante 1 min con agitación constante, dejar enfriar.

Usar únicamente la solución clara.

Efectuar la prueba de sensibilidad en la solución antes de su uso. Para ello, a una mezcla de 1 mL de la solución de almidón soluble y 20 mL de agua, añadir 50 mg de yoduro de potasio y 0.05 mL de SV de yodo 0.005 M. La solución cambiará de incolora a azul.

5.2.12 Medio agar para antibiótico No.1

Suspender 30.5 g del medio en un litro de agua purificada. Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 libras de presión) durante 15 minutos. Enfriar a una temperatura entre 45-50 °C y vaciar en tubos ensaye y colocarlos de forma inclinada.

5.2.13 Medio agar para antibiótico No.11

Suspender 30.5 g del medio en un litro de agua purificada. Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 libras de presión) durante 15 minutos. Enfriar a una temperatura entre 45-50 °C y vaciar en tubos ensaye y colocarlos de forma inclinada.



5.2.14 Solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2

Solución concentrada.

- Fosfato monobásico de potasio 34g
- Agua purificada 500 mL

En un matraz volumétrico de 500mL, disolver el fosfato en el agua y ajustar el pH a 7.2 ± 0.1 con una solución de hidróxido de sodio 1N (aproximadamente 175 mL) llevar a volumen, mezclar, envasar y esterilizar. Almacenar en refrigeración.

5.2.15 Solución diluida de fosfatos pH 7.2

Diluir 1.25 mL de la solución concentrada en 1000 mL de agua purificada.

5.2.16 Solución salina 0.85%

- Cloruro de sodio 8.5g
- Agua purificada 1000 mL

Disolver el cloruro de sodio en el agua, envasar en recipientes adecuados y esterilizar a 121°C durante 15 min.

5.2.17 Medio agar soya tripticaseína

Suspender 40 g del medio en un litro de agua purificada. Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 libras de presión) durante 15 minutos. Dejar enfriar a una temperatura entre $45-50^{\circ}\text{C}$ y vaciar en placas de Petri estériles.

5.2.18 Medio agar papa-dextrosa

Suspender 39 g del medio en un litro de agua purificada. Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 libras de presión) durante 15 minutos. Enfriar a una temperatura entre $45-50^{\circ}\text{C}$ y vaciar en placas de Petri estériles.



5.3 METODOLOGÍA

5.3.1 PREFORMULACIÓN

5.3.1.1 CARACTERIZACIÓN DE ACEITE ESENCIAL DEL ÁRBOL DEL TÉ

5.3.1.1.1 Apariencia (WHO Monographs on Selected Medicinal Plants. Vol 2. 2001,)

Líquido viscoso, incoloro a amarillo tenue, con olor a nuez moscada.

5.3.1.1.2 Índice de refracción (MGA 0741. FEUM 10ª edición)

Ajustar el refractómetro a 25°C, colocar una gota de AAT sobre la superficie del prisma de medición y medir el índice de refracción de acuerdo al MGA. 0741 de la FEUM 10ª edición

5.3.1.1.3 Miscibilidad

Evaluar la miscibilidad del AAT en una proporción 1:1 con los siguientes disolventes.

Tabla 8. Miscibilidad del AAT frente a distintos disolventes

| Disolvente |
|------------------|
| Agua |
| Etanol 80% |
| Benceno |
| Éter de petróleo |
| Cloroformo |

5.3.1.1.4 Densidad (MGA 0251. FEUM 10ª edición)

En un picnómetro de capacidad de 25mLa una temperatura de 20°C determinar la densidad del AAT de acuerdo al MGA 0251 de la FEUM 10ª edición.

5.3.1.1.5 Identificación (Biju SS. Ahuja A. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2005)

Llevar a cabo la identificación del AAT mediante cromatografía en capa fina bajo las siguientes condiciones:



- Fase móvil: mezcla de tolueno y acetato de etilo (85:15)
- Tiempo de saturación en la cámara: 45 min
- Temperatura: $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$
- Distancia de migración: 80 mm

Después de que pasen los 45 minutos, dejar secar completamente. Para visualizar las zonas rociar con anisaldehído y calentar por 15 minutos a 105°C .

5.3.1.2 CARACTERIZACIÓN DE ACEITE PORTADOR

5.3.1.2.1 Apariencia (Codex Stan 210-1999)

Líquido viscoso transparente, de color verde a amarillo verdoso, con olor leve y característico.

5.3.1.2.2 Índice de acidez (MGA 0001. FEUM 10ª edición)

Emplear 10 g de aceite portador para determinar el índice de acidez de acuerdo al MGA 0001 de la FEUM 10ª edición.

5.3.1.2.3 Índice de saponificación (MGA 0791. FEUM 10ª edición)

Emplear 2g de aceite portador para determinar el índice de saponificación de acuerdo al MGA 0791 de la FEUM 10ª edición.

5.3.1.2.4 Densidad (MGA 0251. FEUM 10ª edición)

En un picnómetro de capacidad de 25 mL a una temperatura de 20°C determinar la densidad del aceite portador de acuerdo al MGA 0251 de la FEUM 10ª edición.

5.3.1.2.5 Miscibilidad

Evaluar la miscibilidad del aceite portador en una proporción 1:1 con los siguientes disolventes.



Tabla 9. Miscibilidad del aceite portador frente a distintos disolventes

| Disolvente |
|------------------|
| Agua |
| Etanol 80% |
| Benceno |
| Éter de petróleo |
| Cloroformo |

5.3.1.2.6 Identificación de aceites fijos (MGA 0003. FEUM 10ª edición)

Solución 1. Disolver 0.05 mL de aceite portador en 4 mL de cloroformo.

Procedimiento. Impregnar la cromatoplaaca seca colocándola en una cámara de desarrollo que contenga una capa de 5 mm a 10 mm de profundidad de una mezcla de éter de petróleo (rango de ebullición de 50°C a 70°C): parafina liquida (95:5), dejar que el disolvente de impregnación ascienda por lo menos $\frac{3}{4}$ partes de la cromatoplaaca, retirar la cromatoplaaca y dejarla secarla al aire durante 5 minutos, al desarrollar el cromatograma el disolvente deberá ascender en el sentido en el que subió el disolvente de impregnación. Usar ácido acético glacial como fase móvil. Aplicar separadamente en la cromatoplaaca 2µL de la solución 1. Después de sacar la cromatoplaaca , secar a 110°C durante 10 minutos e introducirla a una cámara saturada con vapores de yodo , después de unos minutos, comienzan a hacerse visibles manchas café o café amarillento. Retirar la cromatoplaaca y dejarla reposar unos minutos hasta que desaparezca el fondo café. Rociar la SI de almidón; aparecen manchas azules las cuales cambian a color café al secarse y cambian nuevamente a azul al rociarlas con agua.



5.3.1.3 ESTABILIDAD

Llevar a cabo el estudio de estabilidad del aceite portador y la mezcla de AAT al 8%, como se muestra en la Tabla 10.

Tabla 10. Condiciones para estudio de estabilidad de AAT y mezcla de AAT al 8%.

| SOLUCIÓN (24 horas/80°C) | SÓLIDO (6 semanas) |
|-------------------------------|--------------------|
| <i>Hidrólisis</i> | Luz blanca |
| HCl (0.1 N) | |
| Ácido acético (0.1 N) | Temperatura 60°C |
| <i>Buffers</i> | |
| Boratos | Humedad |
| Acetatos | |
| Fosfatos | |
| Citratos | |
| NaOH (0.1 N) | |
| <i>Oxidación</i> | |
| H ₂ O ₂ | |
| <i>Reducción</i> | |
| Zn+HCl | |

Monitoreada por Cromatografía en Capa Fina (CCF)
Lámpara UV
Sistema de elución. Tolueno-acetato de etilo (85:15)

5.3.1.4 COMPATIBILIDAD (AAT - Excipientes)

De acuerdo a la forma farmacéutica que se elija, probar diversos excipientes que podrían ser incluidos en la formulación. Hacer mezclas binarias entre el AAT al 8% y los excipientes de prueba en una proporción 1:1 (500 mg / 500mg).

Monitorearla compatibilidad física evaluando cambios en el color, cambios de estado, entre otros y la compatibilidad química mediante cromatografía en capa fina con el sistema de elución Tolueno- Acetato de etilo (85:15), con respecto a un estándar.



5.3.2 FORMULACIÓN

La concentración del principio activo (Aceite Esencial del Árbol del Té) en la formulación será del 1% con base a los datos reportados en la literatura (Hammer KA, Carson CF, Riley TV. *Suceptibility of transient and comensal skin flora to the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil)*. *Am. J. Infect. Control* 24:186-189).

En el estudio de formulación, se probarán los excipientes que no presentaron incompatibilidad con el principio activo como se muestra en la Tabla 11.

Tabla 11. Posibles excipientes de la formulación

| AAT (1%) con.. |
|---------------------|
| Fase oleosa |
| Emoliente 1 |
| Emoliente 2 |
| Emoliente 3 |
| Surfactantes |
| Surfactante 1 |
| Surfactante 2 |
| Surfactante 3 |
| Conservador |
| Conservador 1 |
| Antioxidante |
| Antioxidante 1 |

5.3.3 SELECCIÓN DE LA FÓRMULACIÓN FINAL

Seleccionar la formulación final en base a las pruebas de control de calidad como forma farmacéutica, y elegir la formulación que cumpla con las especificaciones de calidad.



5.3.4 ESCALAMIENTO

Llevar a cabo el escalamiento de un lote piloto de 50 g a un lote de producción de 1000g .

Para ello es necesario evaluar el equipo y las condiciones óptimas para llevar a cabo el escalamiento del lote dentro de la planta piloto.

5.3.5 PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD COMO FORMA FARMACÉUTICA

5.3.5.1 Apariencia (FEUM 10ª edición)

Vaciar por separado el contenido de 10 envases de la muestra en cajas petri limpias y secas, observar bajo condiciones adecuadas de visibilidad la apariencia. El contenido es un semisólido, homogéneo, libre de gránulos y partículas extrañas.

5.3.5.2 pH (MGA 0701. FEUM 10ª edición)

Suspender 0.5 g de la emulsión en 15 mL de agua. Determinar el pH aparente de la emulsión de acuerdo al MGA 0701 de la FEUM 10ª edición.

5.3.5.3 Consistencia (PNO-0117-09-04. FES Zaragoza. UNAM)

Llevar a cabo la prueba de consistencia de acuerdo al PNO-0117-09-04. FES Zaragoza. UNAM.

5.3.5.4 Diámetro de dispersión (PNO-0117-09-04. FES Zaragoza. UNAM)

Llevar a cabo la prueba de diámetro de dispersión de acuerdo al PNO-0117-09-04. FES Zaragoza. UNAM.

5.3.5.5 Límites microbianos (MGA 0571. FEUM 10ª edición)

Llevar a cabo la prueba de límites microbianos bajo las siguientes condiciones:

- Efectuar hasta la segunda dilución de la muestra
- Para la preparación de la muestra adicionar 10 mL polisorbato 20.

Realizar la prueba de límites microbianos de acuerdo al MGA 0571 de la FEUM 10ª edición.

5.3.6 EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA (MGA.0100. FEUM 10ª Edición)

Una vez seleccionada la formulación final se procedió a evaluar la actividad antibacterial adecuando el método de potencia microbiológica (MGA.0100. FEUM 10ª edición) que evalúa la potencia de los antibióticos frente a microorganismos específicos.

Condiciones:

- Emplear el método de cilindro en placa (difusión en agar)
- Microorganismo de prueba: *Sarcina lutea*
- Preparación del inóculo. Emplear el medio de cultivo: No.1. El microorganismo será resembrado en tubos de agar inclinado durante 3 días. Como se muestra en la figura 13.

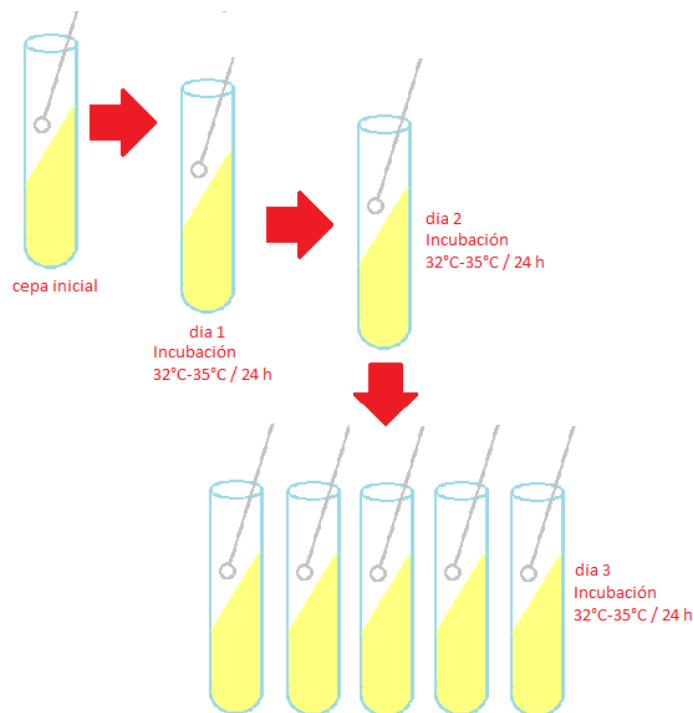


Fig 13. Preparación del inóculo.

- Preparación del estándar: Preparar una solución de 20µg/mL de ampicilina sódica.
- Preparación de las muestras: Preparar soluciones de 20 µg/mL de la mezcla de AAT al 8%, del aceite portador y de la formulación seleccionada. Las muestras serán preparadas como lo indica el MGA 0571. Límites microbianos de la FEUM 10ª edición empleando polisorbato 20 para diluir.

- Colocar los penicilindros con las muestras en cajas petri como se muestra en la figura 14.

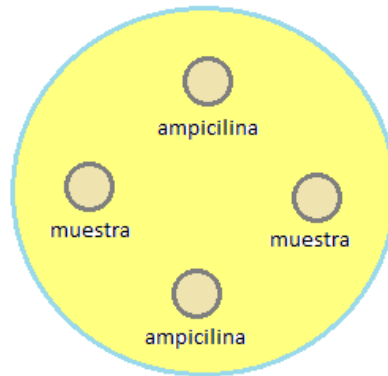


Fig. 14. Colocación de muestras en placa.

Proceder de acuerdo al MGA 0100. FEUM 10ª edición.

5.3.7 CICLAJE

Para la prueba de ciclaje probar dos tipos de material de empaque, con las siguientes características:



Fig 15. Frasco de vidrio ámbar con tapa de baquelita con capacidad para 60 mL

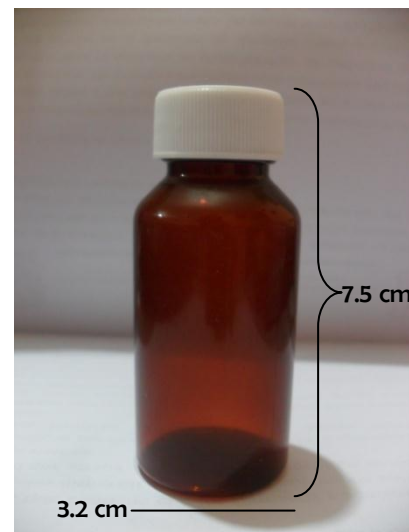


Fig 16. Frasco de polietileno ámbar con tapa de plástico con capacidad para 50 mL



Para la prueba de ciclaje proceder como se indica a continuación:

1. Llenar 10 frascos de polietileno y 10 frascos de vidrio ámbar con 30 g de la emulsión de Aceite esencial del Árbol del Té.
2. Identificar y colocar los frascos en una caja con las dimensiones óptimas para contenerlos.
3. Colocar la caja con los frascos dentro de la estufa de estabilidad acelerada a una temperatura de 60°C durante 24 h.
4. Retirar de la estufa de estabilidad y colocar la caja en el refrigerador a una temperatura de 4°C durante 24h
5. Retirar la caja del refrigerador y colocar nuevamente la caja a las condiciones establecidas en el punto 3.
6. Realizar del punto 3 al 5 durante dos semanas.
7. Terminado el tiempo proceder a realizar las pruebas de control de calidad para el producto.

Para determinar el material de empaque, evaluar la pérdida de peso de los frascos, para ello es importante pesar los frascos con el producto antes de someterlos a ciclaje y pesarlos nuevamente al final del proceso.



6. RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

6.1 PREFORMULACIÓN

6.1.1 Caracterización

6.1.1.1 Caracterización del principio activo

Tabla 12. Resultados de la caracterización del Aceite Esencial del Árbol del Té (WHO. 2001)

| ANÁLISIS | LIMITES | RESULTADO |
|----------------------|--|----------------------|
| Apariencia | Líquido viscoso incoloro a amarillo tenue con olor mirístico | Cumple |
| Índice de refracción | 1.475-1.482 | 1.477 Cumple |
| Densidad | 0.885-0.906 g/mL | 0.898 g/mL Cumple |
| Miscibilidad | Miscible en etanol al 85% Miscible en cloroformo y éter, benceno. Inmiscible en agua | Cumple |

Dentro del estudio de preformulación, se llevó a cabo la caracterización del principio activo (Ver resultados. Tabla 12) donde se evaluó la apariencia del AAT, se observó que es un líquido viscoso de color ligeramente amarillo, con olor característico, tal como lo reporta la monografía de la WHO 2001, propio del aceite; se midió el índice de refracción que fue de 1.475, que de acuerdo a la WHO 2001, se encuentra dentro del intervalo de 1.475-1.482, cumpliendo con la especificación; se obtuvieron la densidad relativa que fue de 0.898, que de acuerdo a la WHO 2001 entra dentro del intervalo reportado que es de 0.885 g/mL a 0.906 g/mL y finalmente se comprobó la miscibilidad del AAT en etanol y su inmiscibilidad en agua.



6.1.1.2 Caracterización del aceite portador

Tabla 13. Resultados de la caracterización del aceite portador (Codex Stan)

| ANÁLISIS | LIMITES | RESULTADO |
|--------------------------|---|------------------------|
| Apariencia | Líquido amarillo verdoso oleoso, prácticamente inodoro, con sabor suave característico. | Cumple |
| Índice de refracción | 1.473-1.476 | 1.475 Cumple |
| Índice de acidez | <0,5 mg KOH/g | 0.1 mg KOH/g Cumple |
| Índice de saponificación | 182-194 mg KOH/g | 181.4 Cumple |
| Densidad | 0.920-0.926 g/mL | 0.924 g/mL Cumple |
| Miscibilidad | Ligeramente miscible en etanol de 96°C. Miscible en cloroformo y éter, benceno. Inmiscible en agua. | Cumple |

Durante la preformulación se llevó a cabo la caracterización del aceite portador (Ver resultados. Tabla 13), la razón es porque este se emplea como vehiculó para administrar al principio activo, ya que los aceites esenciales no pueden ser aplicados directamente sobre la piel. Para ello, se evaluó su apariencia, donde se observó que es un líquido amarillo verdoso, viscoso y con un aroma casi poco perceptible, propio del aceite, tal como se reporta en la Norma Codex para Aceites Vegetales (Codex Stan); se evaluó el índice de refracción que fue de 1.475, el mismo que entra dentro de intervalo de referencia de 1.473-1.476; así mismo se determinaron los índices de acidez y saponificación del aceite portador, los cuales fueron de 0.1 mg KOH/g y 181.4 mg KOH/g respectivamente , que se encuentra dentro de los intervalos de referencia que son de <0.5 mg KOH/g y 182-194 mg KOH/g; se determinó la densidad relativa que fue de 0.924 g/mL, misma que se encuentra dentro del intervalo de referencia que es de 0.920-0.926 g/mL;y finalmente se comprobó la miscibilidad solubilidad del aceite portador en etanol, cloroforme y éter.

Como se puede observar, tanto en el aceite portador como en el principio activo no se llevó a cabo la valoración de los mismos, debido a que no se cuenta con el equipo (cromatógrafo de gases o cromatógrafo de gases-espectrofotómetro de masas) para realizar la prueba que nos permita identificar todos los compuesto que caracterizan a estos aceites y que permiten identificarlos como tal. Las pruebas de caracterización del principio activo y del aceite portador tuvieron como finalidad conocer las propiedades fisicoquímicas que proporcionaron datos para el estudio de formulación del producto.



6.1.2 Estabilidad

6.1.2.1 Estabilidad a la sexta semana

Se llevó a cabo el estudio de estabilidad del principio activo (AAT), aceite portador y la mezcla al 8% de AAT, a diferentes condiciones de estabilidad durante 6 semanas. Los resultados obtenidos son los siguientes:

Tabla 14. Resultados de estudio de estabilidad a la sexta semana

| CONDICIÓN | RESULTADO | | | | | |
|-------------------|---------------------|-----------|---------------------|---------|---------------------|---------|
| | AAT | | PORTADOR | | MEZCLA 8% | |
| | FÍSICO | QUÍMICO | FÍSICO | QUÍMICO | FÍSICO | QUÍMICO |
| Temperatura(60°C) | Sin cambio aparente | Estable | Sin cambio aparente | Estable | Sin cambio aparente | Estable |
| Luz blanca | Sin cambio aparente | Inestable | Sin cambio aparente | Estable | Sin cambio aparente | Estable |
| Humedad (75%) | Sin cambio aparente | Estable | Sin cambio aparente | Estable | Sin cambio aparente | Estable |

Monitoreada por Cromatografía en Capa Fina (CCF)
 Sistema de elución Tolueno- Acetato de etilo (85:15) (AAT al 8%)
 Sistema de elución Ácido acético/Yodo (Aceite portador)

Se llevó a cabo el estudio de estabilidad de para conocer las principales rutas de degradación del principio activo y del aceite portador, (Tabla 14). Los resultados revelan que el principio activo (AAT) se mantiene estable a una temperatura de hasta 60°C y humedad de 75%, mientras que en presencia de luz, mostró ser inestable.

Por otro lado, el aceite portador y la mezcla de AAT al 8% mostraron ser estable a todas las condiciones a las que fueron sometidos, por lo que se puede inferir que el aceite portador puede aportar cierta protección al principio activo, ya que este ultimo al encontrarse sólo mostró ser inestable a la luz, mientras que diluido con el aceite portador no.

Así mismo, tanto el principio activo, como el aceite portador, y la mezcla de AAT al 8%, no mostraron cambios físicos aparentes a la sexta semana del estudio de estabilidad.



6.1.2.2 Estabilidad a las 24 h

Se llevó a cabo el estudio de estabilidad en solución durante 24 h del principio activo (AAT), del aceite portador y de la mezcla de AAT al 8%, se colocó 1 g de principio activo y 1 g de aceite portador, cada uno en 100 mL de cada solución de prueba para conocer las condiciones de pH a los cuales son estables y otras rutas de degradación:

Tabla 15. Resultados del estudio de estabilidad a las 24h

| CONDICIÓN | RESULTADO | | | | | |
|-------------------------------|---------------------|-----------|---------------------|-----------|--------------------------|-----------|
| | AAT | | PORTADOR | | MEZCLA | |
| | FÍSICO | QUÍMICO | FÍSICO | QUÍMICO | FÍSICO | QUÍMICO |
| HCl (0.1 N) | Sin cambio aparente | Inestable | Sin cambio aparente | Inestable | Inmiscibles entre si | Inestable |
| Ácido acético (0.1 N) | Sin cambio aparente | Inestable | Sin cambio aparente | Inestable | Sin cambio aparente | Inestable |
| Boratos | Sin cambio aparente | Estable | Sin cambio aparente | Estable | Sin cambio aparente | Estable |
| Acetatos | Sin cambio aparente | Estable | Sin cambio aparente | Estable | Sin cambio aparente | Estable |
| Fosfatos | Sin cambio aparente | Estable | Sin cambio aparente | Estable | Sin cambio aparente | Estable |
| Citratos | Sin cambio aparente | Estable | Sin cambio aparente | Estable | Sin cambio aparente | Estable |
| NaOH (0.1 N) | Sin cambio aparente | Inestable | Sin cambio aparente | Inestable | Se distinguen tres fases | Inestable |
| H ₂ O ₂ | Sin cambio aparente | Inestable | Sin cambio aparente | Inestable | Sin cambio aparente | Inestable |
| Zn + HCl | Sin cambio aparente | Estable | Sin cambio aparente | Estable | Sin cambio aparente | Estable |

Condiciones 80°C

Monitoreada por Cromatografía en Capa Fina (CCF)

Sistema de elución Tolueno- Acetato de etilo (85:15) (AAT y mezcla de AAT al 8%)

Sistema de elución Ácido acético/Yodo (aceite portador)

Como se observa (Tabla 15) el principio activo (AAT), el aceite portador y la mezcla al 8% de AAT, mostraron ser inestable en condiciones drásticas de pH (HCl, ácido acético y NaOH) y en presencia de oxígeno (H₂O₂), mientras que mostro ser estable en condiciones intermedias de pH.



Con los resultados obtenidos en el estudio de estabilidad se infiere que la principal ruta de degradación del principio activo, así como del aceite portador es la oxidación y la fotólisis, ruta que caracteriza a todos los aceites, esto se debe principalmente a que la mayoría de los componentes (terpenos) del principio activo en sus estructuras poseen grupos funcionales OH o éster, que son susceptibles a sufrir reacciones de oxidación, así mismo las reacciones de fotólisis se ven asociadas a las reacciones de oxidación, ya que la luz se considera un iniciador de la oxidación. Por lo tanto, con estos resultados se revela que para mantener la estabilidad del principio activo, éste debe ser protegido de la luz del contacto directo con el oxígeno. Estos resultados se respaldan al compararlos con lo reportado en la literatura (ISO 4730, International Standard Oil of Melaleuca, 1996).

Así mismo se revela que el principio activo es inestable en valores de pH drásticos, y una gran estabilidad en intervalos de pH intermedio que oscila entre 3 a 8, por lo tanto, se debe mantener al principio activo dentro de la formulación en un pH sea cercano a 7.



6.1.3 Compatibilidad

Con los resultados obtenidos durante la caracterización del principio activo y del aceite portador y los obtenidos en el estudio de estabilidad, se optó por fabricar una emulsión como forma farmacéutica, tomando como referencia que el principio activo es inmisible con el agua; así mismo, que el principio activo y aceite portador mostraron ser estables en un amplio rango de pH y que las emulsiones de aplicación tópica (cremas) tienen un pH cercano a 5.5; que el aceite portador confiere protección al principio activo y este mismo podría ser usado como fase oleosa dentro de la formulación; y que además si es acondicionado en un envase adecuado que lo proteja de la luz y el oxígeno, mas la adición de un antioxidante a la formulación podría protegerse al principio activo de sus principales rutas de degradación.

Para ello se eligieron distintos excipientes que cumplieran con las características necesarias para ser incluidos dentro de la formulación. Se sometieron a un estudio de compatibilidad durante 6 semanas en condiciones específicas. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Tabla 16. Resultados de la compatibilidad del AAT diluido al 8% y los posible excipientes de la formulación, a la sexta semana

| AAT (1%) con.. | RESULTADO | |
|---------------------|---------------------|------------|
| | FÍSICO | QUÍMICO |
| Fase oleosa | | |
| Aceite portador 1 | Sin cambio aparente | Compatible |
| Aceite portador 2 | Sin cambio aparente | Compatible |
| Emoliente 1 | Sin cambio aparente | Compatible |
| Emoliente 2 | Sin cambio aparente | Compatible |
| Emoliente 3 | Sin cambio aparente | Compatible |
| Surfactantes | | |
| Emulsificante 1 | Sin cambio aparente | Compatible |
| Emulsificante 2 | Sin cambio aparente | Compatible |
| Emulsificante 3 | Sin cambio aparente | Compatible |
| Conservador | | |
| Conservador 1 | Sin cambio aparente | Compatible |
| Antioxidante | | |
| Antioxidante 1 | Sin cambio aparente | Compatible |

Condiciones 50°C

Monitoreada por Cromatografía en Capa Fina (CCF)
 Sistema de elución Tolueno: Acetato de etilo (85:15)



Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Estudios Superiores "Zaragoza"
"ESTUDIO DE UNA FORMULACIÓN FITOTERAPÉUTICA PARA APLICACIÓN TÓPICA
CON ACEITE ESENCIAL DEL ÁRBOL DEL TÉ (*Melaleuca alternifolia*)"



Como se muestra en los resultados (Ver resultados. Tabla 16) todos los excipientes mostraron ser compatibles con el principio activo hasta la sexta semana. Así mismo no se mostraron cambios físicos aparentes a la sexta semana de prueba. Los resultados del estudio de compatibilidad revelan que los excipientes son aptos para estar dentro de la formulación, ya que no presentaron ninguna interacción física ni química entre ellos.



6.2 FORMULACIÓN

Se procedió a fabricar diferentes formulaciones empleando los excipientes aceptados por el estudio de compatibilidad. Se variaron los porcentajes, se hicieron combinaciones entre ellos o bien se emplearon solo algunos de ellos dentro de la formulación según fuera conveniente. Las formulaciones propuestas, así como las observaciones hechas a cada una se muestran a continuación:

Tabla 17. Formulaciones propuestas

| COMPONENTES | Cantidad (g) para lotes de 50 g | | | | | | | |
|-------------------------------|---------------------------------|---|----------------------------------|--------------|----------------|---------------------------------|-------------|--------------------------|
| | F1 | F2 | F3 | F4 | F5 | F6 | F7 | F8 |
| Principio activo | 1% | 1% | 1% | 1% | 1% | 1% | 1% | 1% |
| Aceite del árbol del té | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0,5 |
| Fase oleosa | 40% | 30% | 40% | 30% | 30% | 40% | 40% | 25% |
| Aceite portador 1 | 15.9 | 15 | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Aceite portador 2 | --- | --- | 15 | 12 | 12 | 15 | 15 | 8,8 |
| Emoliente1 | 0.5 | 0.15 | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Emoliente 2 | --- | --- | 0.3 | 1.5 | 1.5 | 2 | 0.3 | 0.2 |
| Emoliente 3 | 2 | 2 | 4.7 | 1.5 | 1.5 | 2 | 4.7 | 3,0 |
| Fase acuosa | 60% | 70% | 60% | 70% | 70% | 60% | 60% | 75% |
| Conservador 1 | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0,05 |
| Antioxidante 1 | --- | --- | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0,05 |
| Agua | cbp | Cbp | Cbp | Cbp | Cbp | cbp | Cbp | cbp |
| Agentes emulsificantes | 2% | 2% | 2% | 4% | 2% | 2% | 2% | 2% |
| Emulsificante 1 | 1 | 1 | 1 | --- | --- | - | 0.88 | 0,88 |
| Emulsificante 2 | --- | --- | --- | 0.6 | 0.3 | 0.3 | - | - |
| Emulsificante 3 | --- | --- | --- | 1.4 | 0.7 | 0.7 | 0.12 | 0,12 |
| OBSERVACIONES | Separación de fases. | Pastosa No se absorbe Olor al aceite portador 1 | Poco untuosa. Absorción Lenta | Coalescencia | Grumosa Ligera | Poco untuosa Absorción lenta | Poco fluida | Formulación seleccionada |



En el estudio de formulación se modificaron las cantidades de los excipientes hasta lograr la formulación ideal (Ver resultados. Tabla 17). En la formulación 1 (F1), se observó una separación de las fases después de detener la agitación, lo que pudo deberse al agente tensoactivo ya que en la formulación solo se incluyó el emulsionante 1, así como también pudo deberse a que no hubo un control en las temperaturas en ambas fases, ya que la temperatura es un factor crítico para evitar la ruptura de la emulsión, o bien un tercer factor pudo haber sido el tiempo de agitación, probablemente fue muy corto para la formación final de la emulsión.

En la formulación 2 (F2) se cuidaron los factores críticos (agitación y temperatura) que se descuidaron en la F1, y se modificaron las proporciones de la fase oleosa y acuosa, aumentando la proporción de la fase acuosa un 10%. En esta formulación siguió empleándose el mismo agente tensoactivo que en la F1, en ésta formulación no hubo separación de fases, por lo que los problemas de separación en la F1, fueron ajenos al emulsionante, sin embargo la consistencia de la emulsión era como la de una pasta y no se absorbía al colocarla sobre la piel, por lo que puede atribuirse a que el emoliente 1 que se incluyó en la formulación que es muy duro.

En la formulación 3 (F3), se procedió a sustituir el emoliente 1 por el emoliente 2, debido a que presenta propiedades humectantes y suavizantes, además de presentar textura suave, untuosa y de fácil absorción a la piel, así mismo se procedió a aumentar la cantidad de emoliente 3 a la formulación para aumentar la consistencia y la textura de la emulsión, sin embargo pese a que se cambiaron los excipientes, la consistencia seguía siendo poco untuosa y de lenta absorción, aunque en menor cantidad comparada con la F2. Se incluyó en esta formulación un antioxidante para mantener la estabilidad química de la emulsión. Se reemplazó el aceite portador 1 en la formulación por aceite portador 2, debido, a que en la emulsión se percibía intensamente el olor característico del aceite portador 1.

En la formulación 4 (F4) se cambiaron los porcentajes de las fases acuosa y oleosa, con el fin de crear una emulsión más fluida, se aumentó la cantidad de emoliente 2 con el fin de darle una textura más suave a la formulación, se redujo a la mitad la cantidad del emoliente 3, solo para que cumpliera con la función de complementar las funciones del emoliente 2. En la F4, se cambió el sistema emulsionante, y se implementó un sistema compuesto por dos tensoactivos (emulsionante 2 y emulsionante 3) ya que los sistemas complementarios permiten tener una mayor estabilidad en las emulsiones que el emplear un solo emulsionante. En la F4 se observaron gotitas en la superficie de la emulsión, después de tres días (cremación).



En la formulación 5 (F5) se redujo la cantidad de emulsionante de un 4% en la F4 a un 2% como lo reporta la literatura, sin embargo se observaron grumos en la formulación.

En la formulación 6 (F6) se prosiguió a cambiar los porcentajes de las fases acuosa y oleosa, aumentando el porcentaje en la fase oleosa para obtener una formulación con más consistencia. Sin embargo al final de la formulación se observaba poco untuosa y de absorción lenta.

En la formulación 6 (F6) se retomó el empleo del emulsionante 1, y se complementó con otro emulsionante, en este caso se usó el emulsionante 3, se observó que al final de la formulación, presentaba una apariencia más homogénea, se absorbía rápido y su consistencia era suave, aunque la emulsión era poco fluida, pero se observó que el sistema emulsionante era el adecuado., por lo que en la formulación 7 (F7), solo se prosiguió a modificar las proporciones de la fase acuosa y oleosa, aumentando la fase acuosa, para darle una consistencia más fluida y disminuyendo un poco las cantidades de humectante 2 y humectante 3. Finalmente se observó que la formulación 8(F8) cumplía con las características para una emulsión estable, por lo que ésta fue la formulación seleccionada. Para todas las formulaciones propuestas se determinó matemáticamente su HLB.

En todas las formulaciones la concentración del principio activo fue del 1%, concentración a la cual según la literatura (*Hammer KA. Susceptibility of transient and commensal skin flora to the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil). Am J Infect Control 1996; 24:186-189.*) el AAT tiene actividad bactericida frente a diversos microorganismos incluyendo, *Sarcina lutea*, *Staphylococcus epidermis*, *Corynebacterium acnes*, microorganismos que se consideran flora normal de la piel y que a su vez se encuentran relacionado a problemas dermatológicos como es el caso de acné.



6.3 FORMULA SELECCIONADA

En la siguiente tabla se muestra la formulación seleccionada y las cantidades empleadas de cada excipiente para un lote de 50 g de producto.

Tabla 18. Formula seleccionada. Formulación para 50 g de producto

| COMPONENTE | CANTIDAD (g) |
|----------------------------------|--------------|
| Aceite esencial del árbol del té | 0,5 |
| Fase oleosa 25% | 12,5 |
| Aceite portador 2 | 8.8 |
| Humectante 2 | 0,2 |
| Humectante 3 | 3,0 |
| Emulsionante 1 | 0.88 |
| Emulsionante 3 | 0.12 |
| Fase acuosa 30% | 37,5 |
| Conservador 1 | 0,05 |
| Antioxidante 1 | 0,05 |
| Agua | Cbp |

6.3.1 PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD DE LA FORMULACIÓN SELECCIONADA

Tabla 19. Resultados de las pruebas de calidad realizadas a la formula seleccionada

| ANALISIS | LIMITE | RESULTADO |
|--------------------|---|------------|
| Apariencia | Semisólido, homogéneo, libre de gránulos y partículas extrañas. | Cumple |
| pH aparente | 5.5- 5.9 para cremas corporales | 5.8 Cumple |

Se procedió a hacer pruebas de control de calidad a la formulación seleccionada (Tabla 19), donde solo se determinó apariencia y pH aparente, ambos parámetros cumplen con las especificaciones reportadas en la literatura, que indican que una emulsión es un semisólido, homogéneo, libre de gránulos y partículas extrañas y con un pH de 5.8.



6.4 ESCALAMIENTO

Se llevó a cabo el escalamiento de un lote piloto de 50 g a un lote de producción de 1000 g .

Para ello se optó por usar para la fabricación de un lote piloto un mezclador planetario ERWEKA®. Mod. AR400 y se procedió a fabricar como se indica a continuación.

1. Para un lote de 1000 g se surtieron: 1 g de antioxidante 1, 4g de emoliente 2, 60 g de emoliente 3, 176 g de aceite portador 2, 17.6 g de emulsionante 1, 2.4 g de emulsionante 3, 1 g de conservador 1, cbp de agua destilada y 10 g de AAT.
2. Para la preparación de la fase oleosa se colocó en un vaso de precipitado de 400 mL de aceite portador 2, el emoliente 2 y 3, el antioxidante 1 y el emulsionante 3. Se colocó en baño maría, con agitación constante y se controló la temperatura para que se mantuviera a $70^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$.
3. Para la preparación de la fase acuosa se colocó en un vaso de precipitado de 600 mL, 400 mL de agua destilada, el conservador 1 y el emulsionante 1 que se pesaron previamente. Se colocó en baño maría, con agitación constante y se controló la temperatura para que se mantuviera a $70^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$.
4. Colocar en el mezclador planetario la fase oleosa a 70°C y mezclar a 36 rpm.
5. Inmediatamente y con agitación constante, agregar a la fase oleosa la fase acuosa a 70°C .
6. Mezclar ambas fases durante 15 minutos a 36 rpm.
7. Aforar a 1000g con agua destilada.
8. Mezclar durante 10 minutos a 36 rpm.

Una vez fabricado el lote piloto se procedió a realizar las pruebas de control de calidad como forma farmacéutica.



6.5 PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD

Tabla 20. Resultados de las pruebas de calidad realizadas a lote de 1 kg

| ANÁLISIS | LÍMITE | RESULTADO |
|------------------------|---|--------------|
| Apariencia | Semisólido, homogéneo, libre de gránulos y partículas extrañas. | Cumple |
| pH aparente | 5.5- 5.9 para cremas corporales | 5.8 Cumple |
| Consistencia | No se especifica | 5.0 |
| Diámetro de dispersión | Poco fluido (50mm a 70 mm) | 50 mm Cumple |
| Límites microbianos | <10 UFC | Cumple |

Después de la fabricación del lote piloto se prosiguió a realizar las pruebas de control de calidad como forma farmacéutica donde se evaluaron: apariencia, pH aparente, consistencia, diámetro de dispersión y límites microbianos. Se observó que la apariencia era de un semisólido, homogéneo, libre de de gránulos y partículas extrañas, con un pH aparente de 5.8, con una consistencia poco fluida y en la cual no hay contaminación microbológica aparente, por lo que el producto cumple con las especificaciones de calidad propias de la forma farmacéutica.



6.6 EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA

6.6.1 Prueba 1

Dentro del estudio de formulación se realizó una evaluación preliminar con el método de potencia microbiológica, mediante el método de difusión de cilindro en placa reportado en la FEUM 10ª edición, para determinar la actividad bactericida que presenta el AAT frente a *Sarcina lútea*, en comparación con la actividad bactericida que presenta la ampicilina sódica.

Los resultados de la prueba se muestran a continuación.

Tabla 21. Resultados de la evaluación microbiológica

| CAJA | SUSTANCIA | MUESTRA | DIAMETRO (mm) |
|------|--------------------------|---------|---------------|
| 1 | Ampicilina | 1 | 20 |
| | | 2 | 22 |
| | Aceite de uva | 1 | 0 |
| | | 2 | 0 |
| 2 | Ampicilina | 1 | 20 |
| | | 2 | 21 |
| | AAT | 1 | 0 |
| | | 2 | 24 |
| 3 | Ampicilina | 1 | 20 |
| | | 2 | 20 |
| | Mezcla | 1 | 0 |
| | | 2 | 0 |
| 4 | Ampicilina | 1 | 22 |
| | | 2 | 20 |
| | Formulación seleccionada | 1 | 0 |
| | | 2 | 0 |

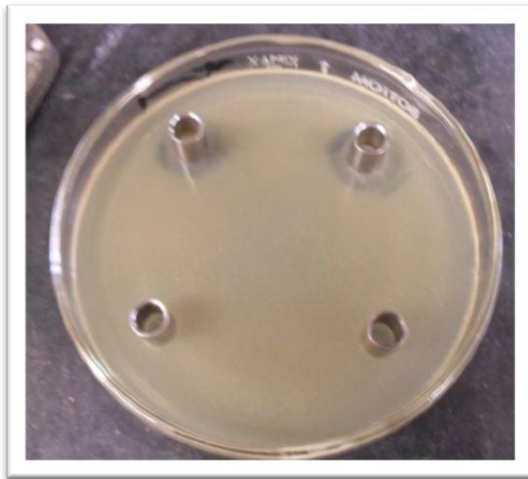


Fig 17. Caja 1. Ampicilina-aceite portador

En la Caja 1 (Fig. 17) se colocaron 2 penicilíndros con una solución de ampicilina a 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y 2 penicilíndros con aceite de uva a 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Se observa que los penicilíndros que contenían la solución de ampicilina presentaron halo de inhibición, mientras que los penicilíndros con la solución de aceite portador no formaron halo de inhibición, por lo que, se comprueba que el aceite portador no presenta efecto bactericida en la formulación.

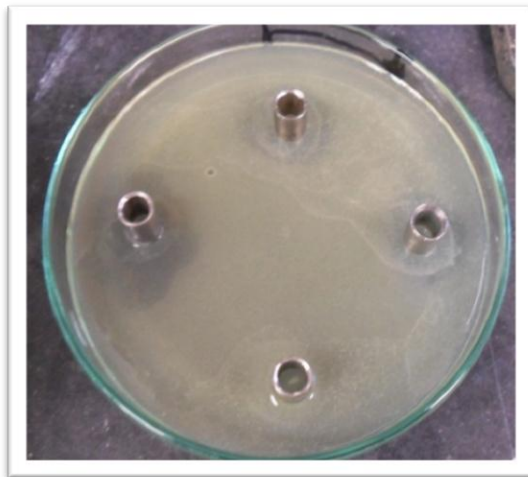


Fig 18. Caja 2. Ampicilina-AAT

En la caja 2 (Fig 18.) se colocaron 2 penicilindros con ampicilina a 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y 2 penicilíndros con AAT a 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, como se observa hubo formación de halos de inhibición en los penicilíndros con la solución de ampicilina, mientras que solo hubo formación de un halo de inhibición en uno de los penicilíndros con la solución de AAT, por lo que no se comprueba del todo que el principio activo presenta actividad bactericida frente al microorganismo de prueba.

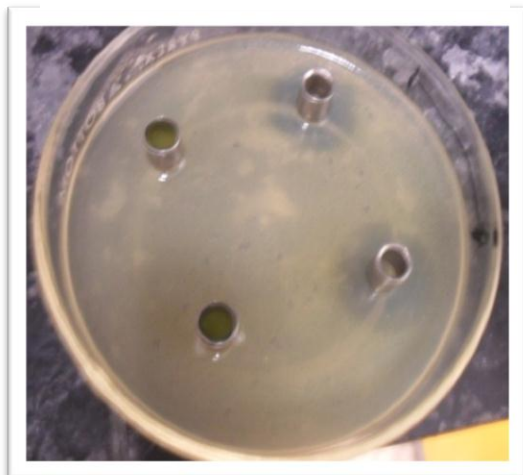


Fig 19. Caja 3. Ampicilina-mezcla de AAT al 8%

En la Caja 3 (Fig. 19) se colocaron 2 penicilíndros con una solución de ampicilina a 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y 2 penicilíndros con la mezcla formada con el AAT-aceite portador a una concentración de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, como se observa hubo formación de halos de inhibición en los penicilíndros con solución de ampicilina, mientras que en los penicilíndros con la mezcla no hubo presencia de halos de inhibición, por lo que tampoco se comprueba que la mezcla presenta efecto inhibitorio frente al microorganismo de prueba.

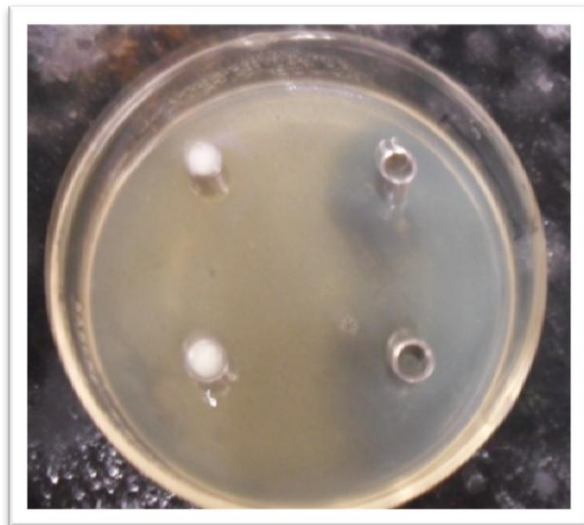


Fig 20. Caja 4. Ampicilina-formulación

En la Caja 4 (Fig. 20) se colocaron 2 penicilíndros de una solución de ampicilina de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y 2 penicilíndros con una con la formulación ideal, como se observa las únicas muestras que presentaron inhibición fueron las de ampicilina, mientras que en las de la formulación no hubo presencia de halo de inhibición, además se observa que no hubo difusión de la muestra debida a sus consistencia, por lo que la ausencia de inhibición en este caso pudo deberse a esto.

Para comprobar que la ausencia de inhibición en las muestras con el principio activo, la mezcla de AAT-aceite portador y la formulación se debió a factores ajeno a ellos, se realizó una prueba complementaria, donde se procedió a colocar 4 penicilíndros con AAT concentrado, 4 penicilíndros con aceite portador concentrado y 4 penicilíndros con la mezcla AAT-aceite portador (8%) por caja.



Fig 21. Caja 5. Aceite portador

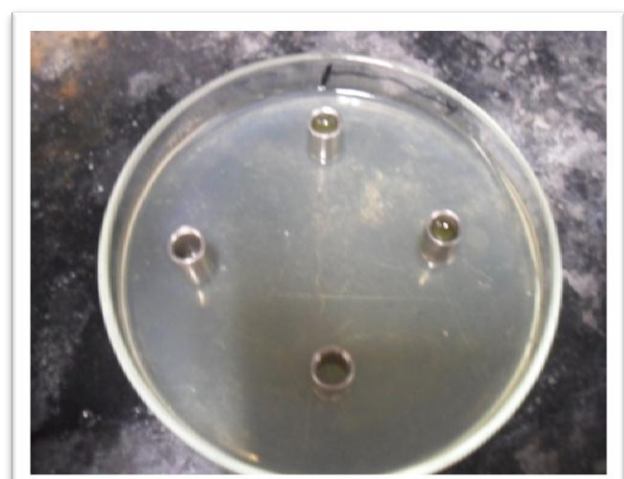


Fig 22. Caja 6. Aceite del árbol de té

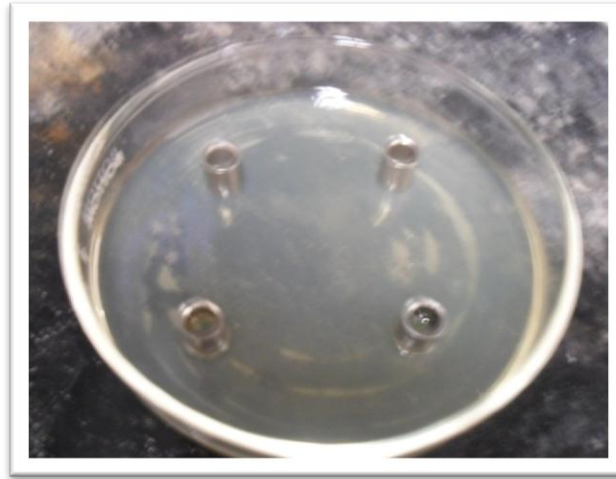


Fig. 23. Caja 7. Mezcla de AAT al 8%

Como se observa en la Caja 5 (Fig. 22) el aceite portador no presento inhibición alguna en el microorganismos de prueba, comprobando que no presenta actividad bactericida, mientras que en la Caja 6 y Caja 7 (Fig. 23 y Fig. 24) donde se colocó el AA y la mezcla AAT-aceite portador, hubo inhibición completa de crecimiento del microorganismo de prueba, por lo tanto se comprueba que los problemas en la prueba preliminar de potencia microbiológica, fueron ajenos al principio activo y los excipientes, siendo posiblemente, que no hubo una difusión adecuada de la muestra en el medio, o bien una baja concentración de principio activo en la muestra, por lo cual no es capaz de ejercer efecto inhibitorio contra el microorganismo de prueba

6.6.2 Prueba 2

Una vez comprobado de que la ausencia de inhibición se debía a problemas ajenos al principio activo, se llevó a cabo una segunda evaluación microbiológica, esta vez solo comparando la ampicilina contra la formulación seleccionada, para ello se emplearon 4 cajas, cada una con 2 penicilíndros que contenían una solución de ampicilina sódica a una concentración de 20µg/mL y 2 penicilíndros con la emulsión de AAT, esta última muestra fue preparada como lo indica el MGA. 0571. Límites microbianos de la FEUM 10ª ed., para tener una mejor difusión de las muestras en el medio.

Tabla 22. Resultados de la evaluación microbiológica de la formulación seleccionada

| CAJA | SUSTANCIA | MUESTRA | DIAMETRO (mm) |
|------|--------------------------|---------|---------------|
| 1 | Ampicilina | 1 | 50 |
| | | 2 | 40 |
| | Formulación seleccionada | 1 | 20 |
| | | 2 | 16 |
| 2 | Ampicilina | 1 | 50 |
| | | 2 | 40 |
| | Formulación seleccionada | 1 | - |
| | | 2 | 20 |
| 4 | Ampicilina | 1 | 45 |
| | | 2 | 55 |
| | Formulación seleccionada | 1 | 15 |
| | | 2 | 16 |

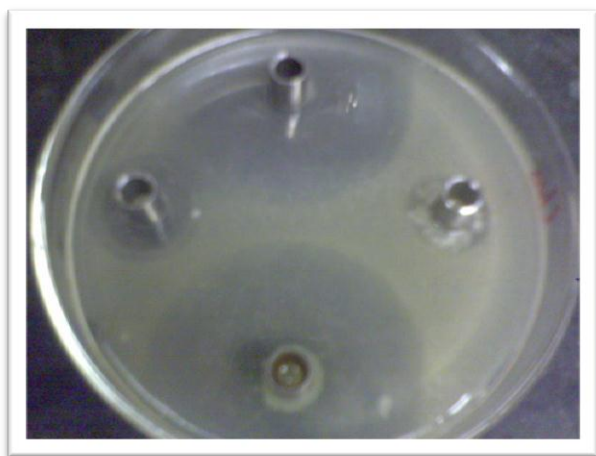


Fig 24. Emulsión Caja 1

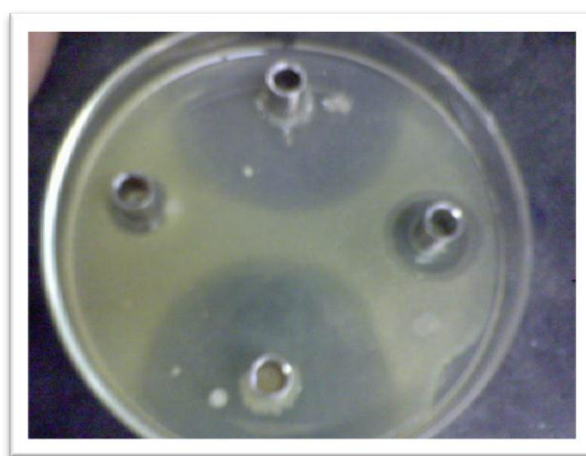


Fig 25. Emulsión Caja 2

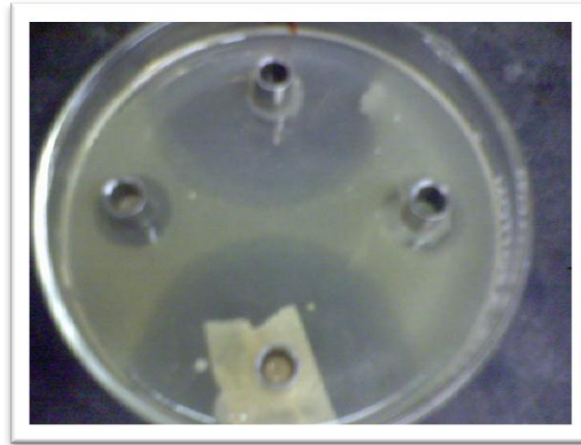


Fig 26. Emulsión Caja 4

Como se muestra en las figuras 24, 25 y 26, se observa que en los penicilíndros donde se colocó la emulsión si hubo inhibición del microorganismo de prueba, aunque comparada a la inhibición debida a la ampicilina, es menor. De esta forma se comprueba que los problemas de inhibición en la prueba 1 se debieron a que posiblemente no hubo una difusión adecuada de la muestra.

De esta forma se comprueba que la formulación seleccionada tiene efecto antibacteriano, aunque comparado con el efecto antibacteriano de la ampicilina es menor, como se muestra en los halos de inhibición obtenidos, es por ello que se sugiere establecer condiciones adecuadas y validar un método para evaluar de forma más precisa la concentración a la cual la formulación tendría un mayor efecto antibacterial.



6.7 CICLAJE

Después del escalamiento se procedió a acondicionar el producto en frascos ámbar de polietileno de alta densidad y vidrio ámbar con 30 g de producto cada uno. Se sometieron a pruebas de ciclaje a condiciones de 60°C/24 h y 4°C/24 h durante dos semanas. Posteriormente se realizaron pruebas de control de calidad al final de la prueba, los resultados se muestran a continuación:

Tabla 23. Resultados de las pruebas de calidad posteriores al ciclaje (envase de polietileno)

| ANÁLISIS | LÍMITE | RESULTADO |
|-------------------------------|---|---------------|
| Apariencia | Semisólido, homogéneo, libre de gránulos y partículas extrañas. | Cumple |
| pH aparente | 5.5- 5.9 para cremas corporales | 5.3 No Cumple |
| Consistencia | No se especifica | 4.7 |
| Diámetro de dispersión | Poco fluido (50mm a 70 mm) | 50 mm Cumple |
| Límites microbianos | <10 UFC/mL | Cumple |

Tabla 24. Resultados de las pruebas de calidad posteriores al ciclaje (envase de vidrio ámbar)

| ANÁLISIS | LÍMITE | RESULTADO |
|-------------------------------|---|--------------|
| Apariencia | Semisólido, homogéneo, libre de gránulos y partículas extrañas. | Cumple |
| pH aparente | 5.5- 5.9 para cremas corporales | 5.6 Cumple |
| Consistencia | No se especifica | 4.9 |
| Diámetro de dispersión | Poco fluido (50mm a 70 mm) | 50 mm Cumple |
| Límites microbianos | <10 UFC/mL | Cumple |



Así mismo para determinar el material de empaque que mejor mantiene la calidad del producto, se evaluó la pérdida de peso en ambos materiales, los resultados fueron los siguientes:

Tabla 25. Resultados de la prueba de pérdida de peso para los materiales de empaque tentativos

| No. Frasco | Polietileno | Vidrio |
|------------|---------------------|---------------------|
| | Pérdida de peso (%) | Pérdida de peso (%) |
| 1 | 0.21 | 0.03 |
| 2 | 0.15 | 0.10 |
| 3 | 0.25 | 0.04 |
| 4 | 0.20 | 0.02 |
| 5 | 0.30 | 0.11 |
| 6 | 0.17 | 0.07 |
| 7 | 0.19 | 0.01 |
| 8 | 0.29 | 0.05 |
| 9 | 0.21 | 0.09 |
| 10 | 0.15 | 0.03 |
| X | 0.2 | 0.06 |
| SD | 0.053082745 | 0.03535534 |

Se observa (Tabla 24 y Tabla 25) que aunque todos los resultados del análisis de control de calidad entran dentro de los intervalos establecidos (con excepción de pH en el envase de polietileno), se notan menores cambios en el envase de vidrio ámbar. Así mismo, se observa en la Tabla 25, menor pérdida de peso en el empaque de vidrio comparado con la pérdida de peso en el empaque de polietileno, y esto se debe a que el polietileno es un material que presenta cierta permeabilidad. Aunque este estudio de ciclaje tuvo una duración de dos semanas, sería bueno prolongarlo por más tiempo, para comprobar los resultados.

La literatura (ISO 4730, International Standard Oil of Melaleuca, 1996) indica que para mantener una mayor estabilidad en el almacenaje de los aceites esenciales se sugiere conservarlos en envases de vidrio, ya que ha habido reportes de una cierta interacción de los aceites con el polietileno. También debe recordarse que una de las rutas de degradación del principio activo es la fotólisis, por lo que el material de empaque tiene que ser de color ámbar para protegerlo contra la luz. Finalmente se sugiere que el material de empaque para acondicionar el producto sea en frascos de vidrio ámbar.



Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Estudios Superiores "Zaragoza"
"ESTUDIO DE UNA FORMULACIÓN FITOTERAPÉUTICA PARA APLICACIÓN TÓPICA
CON ACEITE ESENCIAL DEL ÁRBOL DEL TÉ (*Melaleuca alternifolia*)"



El interés de trabajar con el aceite esencial del árbol del té fue principalmente aprovechar sus propiedades antimicrobianas, y aunque existen referencias donde se indica la actividad antifúngica y antiinflamatoria, se quiso dar énfasis a la actividad antibacterial que posee el principio activo, ya que al ser éste de origen natural no hay evidencias de problemas relacionados a resistencia bacteriana como se presentan con los antibióticos existentes actualmente en el mercado. Así mismo se propuso dar al principio activo una forma farmacéutica y una concentración efectiva, ya que en el mercado solo existe el aceite puro que se mezcla con cremas, shampoos o pastas, y cuyas concentraciones son empíricas y que varían de paciente a pacientes. Se optó por una emulsión, debido a las características fisicoquímicas del principio activo y del aceite portador, mismos que se aprovechan en la formulación, pues al ser aceites naturales, fueron incluidos dentro de la fase oleosa del producto.



7. CONCLUSIONES

- Se desarrolló el estudio de preformulación para el Aceite esencial de Árbol del Té en donde se establecieron sus características fisicoquímicas, se determinaron las principales rutas de degradación del principio activo que son la fotólisis y la oxidación, además de que presentó inestabilidad en condiciones drásticas de pH (1 y 14) y compatibilidad con todos los excipientes posibles a ser incluidos en la formulación.
- Con base a los estudios de preformulación se estableció como forma farmacéutica una emulsión.
- Se propuso el método de potencia microbiológica para evaluar la actividad antibacteriana de la formulación.
- En base a estudio de ciclaje hecho, se seleccionó como material de empaque frascos de vidrio ámbar con tapa de plástico.



8. SUGERENCIAS

- Optimizar y validar el método de potencia microbiológica para la evaluación de la actividad antibacterial de la emulsión.
- Elaborar la orden de fabricación del producto y para que sirva de apoyo al laboratorio de Tecnología Farmacéutica II.
- Realizar pruebas de irritabilidad del producto.



9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Gibson M. Pharmaceutical Preformulation and Formulation. A practical Guide from Candidate Drug Selection to Commercial Dosage Form. Estados Unidos: CRC Press;2001.
2. Aulton ME. Farmacia: La ciencia del diseño de las forma farmacéuticas. 2ª ed. España: Editorial Elsevier; 2004.
3. Remington. Farmacia. Vol 1. 20ª ed. Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2003.
4. Manual de laboratorio de Tecnología Farmacéutica III. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. UNAM.
5. International Conference on Harmonization, "ICH Q1A(R2): Stability Testing of New Drug Substances and Products," Step 5 (2003).
6. Levin M. Pharmaceutical Process Scale Up. Estados Unidos: Marcel Dekker Inc; 2002.
7. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 9ª ed. México: Secretaria de Salud Pública, Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos; 2008.
8. Loyd V, Allen JrPhD. The art, science and technology of pharmaceutical compounding. 2ª ed. Estados Unidos: American Pharmaceutical Association; 2002.
9. Castillo GE, Martínez SI. Manual de Fitoterapia. España: Elsevier; 2007.
10. Morales MA, Morales JP. Plantas medicinales, fitofármacos y fitomedicamentos: hacia una medicina (fitoterapia moderna y racional), basada en la evidencia científica. 2ª ed. Chile: Universidad de Chile; 2009.
11. Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios. Hacia una Política Farmacéutica Integral para México. México: Secretaria de Salud; 2005.
12. México. Secretaria de Salud. Ley General de Salud. México: Diario Oficial de la Federación, 7 de febrero de 1984 y sus reformas y adiciones hasta el 14 de febrero de 2006.
13. México. Secretaria de Salud. Reglamento de Insumos para la Salud. México: Diario Oficial de la Federación, 4 de febrero de 1988 y su reforma del 19 de septiembre de 2003.
14. International Organisation for Standardisation. ISO 4730:2004. Oil of *Melaleuca*, terpinen-4-ol type (tea tree oil). International Organisation for Standardisation, Geneva, Switzerland, 2004.
15. Worl Health Organisation. WHO monographs on selected medicinal plants. Vol 2. Genevé. Switzerland. 2004



16. Cox, S. D., C. M. Mann, and J. L. Markham. Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *J. Appl. Microbiol* 2001.91:492–497.
17. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *J. Appl. Microbiol* 2003.95:853–860.
18. Carson CF, TV Riley. Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *J. Appl. Bacteriol* 1995. 78: 264-269.
19. Williams, L. R., and V. N. Home. 1988. Plantation production of oil of *Melaleuca* (tea tree oil)—a revitalised Australian essential oil industry. *Search* 19:294–297.
20. Stability of Tea Tree Oil. RIRDC project USC-9A, Annex 7 of the dossier.
21. Brophy, J. J., N. W. Davies, I. A. Southwell, I. A. Stiff, and L. R. Williams. 1989. Gas chromatographic quality control for oil of *Melaleuca terpinen-4-ol* type (Australian tea tree). *J. Agric. Food Chem.* 37:1330–1335.
22. Carson CF, Hammer KA, Riley TV. *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil): a review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19(1):50.
23. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Susceptibility of transient and commensal skin flora to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Am J Infect Control* 1996; 24:186-189.
24. Penfold, A. R., and R. Grant. 1925. The germicidal values of some Australian essential oils and their pure constituents, together with those for some essential oil isolates, and synthetics. Part III. *J. R. Soc. New South Wales* 59:346–349.
25. Banes-Marshall, L., P. Cawley, and C. A. Phillips. 2001. In vitro activity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil against bacterial and *Candida* spp. Isolates from clinical specimens. *Br. J. Biomed. Sci.* 58:139–145.
26. Hada, T., S. Furuse, Y. Matsumoto, H. Hamashima, K. Masuda, K. Shiojima, T. Arai, and M. Sasatsu. 2001. Comparison of the effects in vitro of tea tree oil and plaunotol on methicillin-susceptible and methicillin resistant strains of *Staphylococcus aureus*. *Microbios* 106(Suppl. 2):133–141.
27. Elsom, G. K. F., and D. Hide. 1999. Susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to tea tree oil and mupirocin. *J. Antimicrob. Chemother.* 43:427–428.
28. Hammer KA, Riley TV. In Vitro susceptibilities of lactobacilli and organisms associated with bacterial vaginosis to *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Antimicrob. Agents Chemother* 1999; 43 (1): 196-197.
29. Sikkema, J., J. A. M. de Bont, and B. Poolman. 1995. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiol. Rev.* 59:201–222.



30. Cox SD, Mann CM, Markham JL, Bell HC, Gustafson JE, Warmington JR, Wyllie SG. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *J. Appl. Microbiol* 2000. 88:170–175.
31. Carson CF, Mee BJ, Riley TV. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrob. Agents Chemother* 2002. 48:1914–1920.
32. Arweiler NB, Donos N, Netuschil L, Reich E, Sculean A. Clinical and antibacterial effect of tea tree oil—a pilot studies. *Clin. Oral Investig* 2000. 70-73.
33. Cassella, S., J. P. Cassella, and I. Smith. 2002. Synergistic antifungal activity of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) and lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oils against dermatophyte infection. *Int. J. Aromather.* 12:2–15.
34. Gustafson, J. E., S. D. Cox, Y. C. Liew, S. G. Wyllie, and J. R. Warmington. 2001. The bacterial multiple antibiotic resistant (Mar) phenotype leads to increased tolerance to tea tree oil. *Pathology* 33:211–215.
35. Mondello, F., F. De Bernardis, A. Girolamo, G. Salvatore, and A. Cassone. 2003. In vitro and in vivo activity of tea tree oil against azole-susceptible and -resistant human pathogenic yeasts. *J. Antimicrob. Chemother.* 51:1223–1229.
36. Hammer KA, Carson CF, Riley TV, Nielsen JB. A review of the toxicity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Food Chem Toxicol* 2006; 44: 616-625.
37. Carson CF, Riley TV, Cookson BD. Efficacy and safety of tea tree oil as a topical antimicrobial agent. *J Hosp Infect* 1998; 40:175-178.
38. Davis P. *Aromaterapia de la A a la Z*. 10ª ed. España: Edaf; 2008.
39. Proyecto de Norma Oficial Mexicana. NOM-072-SSA1-2011. Etiquetado de medicamentos y de medicamentos herbolarios (modifica a la NOM-072-SSA1-1993, Etiquetado de Medicamentos, publicada el 10 de Abril del 2010).



9.1 CIBERGRAFIA

40. <http://www.slideshare.net/zinzita/emulsiones>. Seminario sobre emulsiones. Ricardo C. Pasquali.
41. http://microspheres.us/drug_delivery/dual-nanocomposite-multihollow-polymer-microspheres-prepared-suspension-polymerization-based-multiple-pickering-emulsion/153.html. Dual nanocomposite multihollow polymer microspheres prepared by suspension polymerization based on a multiple pickering emulsion. Polym. Chem., 2010, 1, 75-77.
42. <http://www.ehu.es/reviberpol/pdf/AGO06/aranberri.pdf>. Elaboración y caracterización de emulsiones estabilizadas por polímeros y agentes tensoactivos. Revista Iberoamericana de Polímeros. Aranberri I, et al.
43. <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/v9n3/riojas.html>. Efectos de los surfactantes en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. Química Viva. Héctor H. et al.
44. http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/ap/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/ap-fisquim-farm13/c19.2.html. Emulsions: Theory and Practice. R. Becher.
45. http://oilganic.com/essential-oil-glossary/Tea_Tree_oil.html. Tea Tree oil. *Melaleuca alternifolia*. Oilganic.



11. ANEXO. ETIQUETA DEL PRODUCTO

Etiqueta del producto (empaquete primario), de acuerdo a la **NORMA Oficial Mexicana NOM-072-SSA1-2012, Etiquetado de medicamentos y de remedios herbolarios.** (39)

Melaleuca alternifolia

Emulsión

1%



Contenido: 50 g

"MEDICAMENTO HERBOLARIO"

Fórmula:
 Cada 100 g contienen:
 Aceite Esencial de las hojas y ramas de
Melaleuca alternifolia (Árbol del Té).....1 mL
 Exipiente cbp.....50 g



VIA DE ADMINISTRACIÓN: Tópica. "No ingerible". Sobre la piel limpia y seca aplicar en cantidad suficiente, cubriendo el área a tratar. Aplicar por las noches y evitar la exposición directa al sol. **Advertencia:** No se deje al alcance de los niños. En caso de irritación suspender su uso. Si persisten las molestias consulte a su médico. Reporte las sospechas de reacción adversa al correo: farmacovigilancia@cofepris.gob.mx.
Consérvese a Temperatura ambiente. Consérvese el frasco bien cerrado. Protéjase de la luz.

Hecho en México por: LABORATORIOS FARMACÉUTICOS ZARAGOZA. Batalla del 5 de mayo s/n Col. Ejército de Oriente. Iztapalapa, CP. 09230. México.DF.

Lot: 00000
Cad: 000-00

