



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“ELABORACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DEL GEL ANTIMICÓTICO DE
MANZANILLA (*Matricaria chamomilla*), MATICO (*Aristiguetia glutinosa*) Y
MARCO (*Ambrosia arborescens*) PARA NEO-FÁRMACO”**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR

PAULINA FERNANDA CRUZ ATI

RIOBAMBA – ECUADOR

2009

DEDICATORIA

Dedico este proyecto y toda mi carrera universitaria a Dios por ser quien ha estado a mi lado en todo momento dándome las fuerzas necesarias para continuar luchando día tras día y seguir adelante rompiendo todas las barreras que se me presenten. Le agradezco a mi mamá Yola Ati y mi papá Fernando Cruz ya que gracias a ellos soy quien soy hoy en día, fueron los que me dieron ese cariño y calor humano necesario, son los que han velado por mi salud, mis estudios, mi educación alimentación entre otros, son a ellos a quien les debo todo, horas de consejos , de regaños, de reprimendas de tristezas y de alegrías de las cuales estoy muy seguro que las han hecho con todo el amor del mundo para formarme como un ser integral y de las cuales me siento extremadamente orgulloso.

A mis hermanos Denys y Geovany, que han estado siempre a mi lado siendo mi inspiración para superarme.

A mis amigas que me brindaron su aliento y cariño.

Esta obra les dedico con todo mi amor.

AGRADECIMIENTO

Deseo mostrar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas e instituciones sin las cuales, este trabajo no habría visto la luz.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por contribuir en mi formación profesional.

A los laboratorios Neo - Fármaco por el apoyo brindado en la realización del trabajo investigado y en manera especial al Doctor Rodrigo Peña, Gerente General.

Al Doctor Pablo Naveda director de esta tesis, para mi es un honor haber realizado este trabajo bajo su dirección y le estaré siempre muy agradecida porque ha dedicado su valioso tiempo a ello.

A la Doctora Susana Abdo miembro del tribunal de Tesis, por todos sus conocimientos, consejos y opiniones compartidos durante el transcurso de la realización de este trabajo de investigación.

A todas las personas que colaboraron de una u otra manera para la culminación de este trabajo de investigación.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA

El tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: **“ELABORACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DEL GEL ANTIMICÓTICO DE MANZANILLA (*Matricaria chamomilla*), MATICO (*Aristiguetia glutinosa*) Y MARCO (*Ambrosia arborescens*) PARA NEO-FÁRMACO”** de responsabilidad de la Srta. Egresada Paulina Fernanda Cruz Ati, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dr. Edmundo Caluña -----
DECANO FACULTAD CIENCIAS

Dr. Luis Guevara -----
DIRECTOR (E) ESC. BIOQ. Y FARMACIA

Dr. Pablo Naveda -----
DIRECTOR DE TESIS

Dra. Susana Abdo -----
MIEMBRO DE TRIBUNAL

Lic. Carlos Rodriguez -----
DIRECTOR CENTRO DE DOCUMENTACIÓN

NOTA DE TESIS ESCRITA -----

Yo, Paulina Fernanda Cruz Ati, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados
expuestos en esta tesis, y el patrimonio intelectual de la tesis de grado, pertenece a la
ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

PAULINA FERNANDA CRUZ ATI

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

HR	Humedad Relativa
Log	Logaritmo
=	Igual
λ	Longitud de onda
-	Negativo
>	Mayor que
<	Menor que
%	Porcentaje
A	Aspecto
°C	Grados Celsius
cm	Centímetros
g	Gramos
Kg	Kilogramos
L	Litro
No	Número
NMP	Número mas probable
mg	Miligramo
mL	Mililitro
mm	Milímetro
MP	Materia prima
OMS	Organización mundial de salud
Pb	Plomo
pH	Potencial de hidrógeno
T	Temperatura
t	Tiempo
TLC	Cromatografía en capa fina
UFC	Unidad formadora de colonia

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

1.	MARCO TEÓRICO.....	1
1.1	La fitoterapia.....	1
1.1.1	Concepto.....	1
1.2	Fitomedicamento o fitofármaco.....	3
1.3	Producto natural.....	5
1.4	Plantas medicinales.....	5
1.5	Manzanilla.....	6
1.5.1	Aspectos taxonómicos.....	6
1.5.2	Descripción y hábitat.....	6
1.5.3	Composición química.....	7
1.5.4	Propiedades y usos.....	7
1.5.5	Toxicología.....	8
1.5.6	Acción farmacológica.....	8
1.6	Marco.....	9
1.6.1	Aspectos taxonómicos.....	9
1.6.2	Descripción y hábitat.....	9
1.6.3	Propiedades y usos.....	10
1.6.4	Dosificación.....	10
1.6.5	Composición química.....	10
1.6.6	Actividad Farmacológica.....	11
1.7	Matico.....	11
1.7.1	Aspectos taxonómicos.....	11
1.7.2	Descripción botánica.....	12
1.7.3	Propiedades y usos.....	12
1.7.4	Composición química.....	13
1.7.5	Actividad Farmacológica.....	13

1.8	Flavonoides.....	13
1.8.1	Descubrimiento.....	13
1.8.2	Extracción y análisis.....	14
1.8.3	Origen evolutivo.....	14
1.8.3.1	Ruta de biosíntesis de los flavonoides en las plantas.....	15
1.8.3.2	Funciones en las plantas.....	15
1.8.4	Quercetina.....	16
1.9	Antimicóticos.....	16
1.9.1	Clasificación.....	17
1.9.2	Hongos dermatofitos.....	17
1.9.2.1	Generalidades.....	17
1.9.2.1.1	Dermatofitosis	18
1.9.2.2	Dónde pueden aparecer.....	19
1.9.2.3	Síntomas que producen las micosis.....	19
1.9.2.4	Dónde habitan los hongos.....	19
1.9.2.5	Predisposición a tener micosis.....	19
1.10	Tratamiento antifúngico.....	20
1.11	Geles.....	21
1.11.1	Ventajas y desventajas de los geles.....	21
1.11.2	Características de un gel.....	21
1.11.3	Mecanismo de formación de un gel.....	22
1.11.4	Clasificación de los geles.....	22
1.12	Excipiente.....	24
1.12.1	Propilparabeno.....	25
1.12.2	Metil parabeno	26
1.12.3	Carbopol.....	27
1.12.4	Trietanolamina (tea).....	27
1.13	Control de calidad.....	28
1.14	Estabilidad de medicamentos.....	29
1.14.1	Motivos por los que se realiza un estudio de estabilidad.....	29
1.14.2	Definiciones básicas en un estudio de estabilidad.....	30
1.14.3	Inestabilidad de medicamentos.....	30
1.14.4	Causas de inestabilidad de medicamentos.....	30
1.14.5	Tipos de estudios de estabilidad.....	32
1.14.6	Métodos para realizar el estudio de estabilidad.....	32

1.14.7	Zonas climáticas en un estudio de estabilidad	39
2.	PARTE EXPERIMENTAL	40
2.1	Lugar de investigación.....	40
2.2	Materiales, equipos y reactivos.....	40
2.2.1	Material biológico.....	40
2.2.2	Materiales de laboratorio.....	40
2.2.3	Equipos	41
2.2.4	Reactivos.....	42
2.3	Metodología.....	42
2.3.1	Pruebas de control de calidad de la especie vegetal	42
2.3.1.1	Determinación de humedad	43
2.3.1.2	Determinación de cenizas totales.....	44
2.3.1.3	Determinación de cenizas solubles en agua.....	44
2.3.1.4	Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico.....	45
2.3.1.5	Determinación de sustancias solubles	46
2.3.1.6	Determinación de metales pesados	47
2.3.1.7	Análisis espectrofotométrica del marcador químico: flavonoides totales expresado como porcentaje de quercetina.....	47
2.3.1.8	Cuantificación de flavonoides.....	48
2.3.2	Determinación de microorganismos contaminantes en la droga cruda.....	49
2.3.2.1	Método de conteo de aerobios mesófilos totales en placa.....	49
2.3.2.2	Determinación de coliformes totales.....	50
2.3.2.3	Determinación de coliformes fecales.....	52
2.3.2.4	Investigación de <i>Salmonella</i>	52
2.3.2.5	Método de conteo de mohos en placa.....	54
2.3.3	Preparación para la obtención del extracto fluido.....	54
2.3.4	Control de calidad del extracto.....	55
2.3.4.1	Descripción organoléptica.....	55
2.3.4.2	Determinación del pH.....	55
2.3.4.3	Determinación de la densidad relativa.....	56
2.3.4.4	Determinación del índice de refracción.....	57
2.3.4.3	Determinación de sólidos totales.....	57
2.3.4.5	Tamizaje fitoquímico.....	58
2.4.1	Control de calidad de los excipientes.....	63

2.4.2	Determinación de las cantidades y tipos de excipientes adecuados para la formulación del gel antimicótico.....	68
2.4.2.1	Preparación del gel sin antioxidante.....	68
2.4.2.1.1	Proceso de preparación del gel.....	69
2.4.2.2	Preparación del gel con antioxidante.....	69
2.4.2.2.1	Proceso de preparación del gel.....	70
2.4.3	Control de calidad de los productos terminados.....	70
2.4.3.1	Control de calidad del gel.....	70
2.4.3.2	Análisis microbiológico.....	72
2.5	Ensayos del gel antimicótico frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10213.....	73
2.5.1	Ensayo de la actividad antifúngica.....	73
2.5.1.1	Método de Mitscher.....	73
2.6	Estudio de estabilidad acelerada.....	74
2.6.1	Control organoléptico.....	74
2.6.1.1	Nomenclatura.....	75
2.6.1.1.1	Control Organoléptico de las formulaciones en producto terminado.	75
2.6.2	Controles físicos.....	75
2.6.3	Controles químicos.....	75
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	76
3.1	Control de calidad de la droga cruda.....	76
3.1.1	Determinación del contenido de humedad.....	76
3.1.2	Determinación de cenizas totales.....	77
3.1.3	Determinación de sustancias solubles.....	79
3.1.4	Determinación de metales pesados.....	79
3.1.5	Análisis microbiológico.....	80
3.2	Determinación de los parámetros de calidad del extracto fluido.....	81
3.2.1	Descripción organoléptica.....	81
3.2.2	Parámetros físicos.....	82
3.2.3	Determinación de flavonoides por cromatografía.....	83
3.2.4	Concentración de flavonoides en los extractos de manzanilla, mático y marco.....	85
3.2.5	Reacciones de caracterización, tamizaje fitoquímico.....	85
3.2.6	Control de calidad de los excipientes.....	87
3.2.6.1	Carbopol 940 NF.....	88

3.2.6.2	Metilparabeno base NF.....	89
3.2.6.3	Propilparabeno sódico NF.....	90
3.2.6.4	Trietanolamina (TEA) NF.....	91
3.2.6.5	Alcohol etílico (alcohol potable) NF.....	92
3.2.7	Control de calidad del gel antimicótico de manzanilla, matico y marco.....	93
3.2.7.1	Propiedades físicas.....	93
3.2.7.2	Determinación del pH.....	94
3.2.7.3	Determinación de la Extensibilidad.....	94
3.2.7.4	Determinación de la Viscosidad del Gel.....	95
3.2.7.5	Análisis microbiológico del gel.....	96
3.2.7	Actividad antimicótica del extracto fluido y gel al 25% de manzanilla, matico y marco frente <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.	96
3.2.8	Estudio de estabilidad acelerada.....	97
3.2.8.1	Controles organolépticos.....	97
3.2.8.2	Controles físicos.....	98
3.2.8.3	Control químico.....	107
3.8.4	Determinaciones del tiempo de vida útil del gel antimicótico por aplicación del método de poppe.....	110
3.8.4.1	Estimación de tiempo de vida útil de la Fórmula No. 1.....	110
3.8.4.2	Estimación de tiempo de vida útil de la Fórmula No. 2.....	113
4.	CONCLUSIONES.....	116
5.	RECOMENDACIONES.....	118
6.	RESUMEN.....	119
7.	BIBLIOGRAFÍA.....	121

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No. 1	Valores de constantes para diferentes temperaturas y energías de activación del Método de Poppe.....	37
TABLA No. 2	Zonas Climáticas para un estudio de Estabilidad.....	39
TABLA No. 3	Cuadro utilizada para la interpretación del NMP para la determinación de coliformes totales.....	51
TABLA No. 4	Lista de excipientes utilizados para la elaboración del gel antimicótico, con sus respectivos proveedores.....	63
TABLA No. 5	Nomenclatura utilizada.....	75
TABLA No. 6	Datos para gráfico Log % degradado vs. $1/T \times 10000$ para fórmula 1 gel sin Antioxidante, envase de plástico.....	111
TABLA No. 7	Datos para gráfico Log % degradado vs. $1/T \times 10000$ para fórmula 1 gel sin Antioxidante, envase de aluminio.....	112
TABLA No. 8	Datos para gráfico Log % degradado vs. $1/T \times 10000$ para fórmula 2 gel sin Antioxidante, envase de plástico.....	113
TABLA No. 9	Datos para gráfico Log % degradado vs. $1/T \times 10000$ para fórmula 2 gel sin Antioxidante, envase de aluminio.....	114

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO No. 1	Resultados de la determinación de humedad en manzanilla matico y marco como materia primar. Realizado en el departamento de control de calidad. del laboratorio Neo - Fármaco del Ecuador. Ambato. Abril del 2009.....	76
CUADRO No. 2	Resultados de la determinación de cenizas en manzanilla, matico y marco como materia prima. Realizado en el departamento de control de calidad. del laboratorio Neo - Fármaco del Ecuador. Ambato. Abril del 2009.....	77
CUADRO NO. 3	Resultados de la determinación de cenizas solubles en agua en manzanilla, matico y marco como materia prima. Realizado en el departamento de control de calidad del Laboratorio Neo - Fármaco del Ecuador. Ambato. Abril del 2009.....	78
CUADRO No. 4	Resultados de la determinación de cenizas insolubles en acido clorhídrico en manzanilla, matico, marco como materia prima. Realizado en el departamento de control de calidad del laboratorio Neo - Fármaco del Ecuador. Ambato. Abril del 2009.....	78
CUADRO No. 5	Resultados de la determinación del porcentaje de sustancias solubles en manzanilla como materia prima. Realizado en el departamento de control de calidad del laboratorio Neo - Fármaco del Ecuador. Ambato. Abril del 2009	79
CUADRO No. 6	Resultados de la determinación de aerobios mesófilos totales, coliformes totales, coliformes fecales, <i>Salmonella</i> , mohos y levaduras en manzanilla, matico y marco como materia prima. Realizado en el departamento de control de calidad del laboratorio Neo - Fármaco del Ecuador. Ambato. Abril del 2009	80
CUADRO No. 7	Resultados de la descripción organoléptica del extracto fluido de manzanilla, matico y marco. Realizado en el departamento de control de calidad del laboratorio Neo - Fármaco del Ecuador. Ambato. Mayo del 2009.	81
CUADRO No. 8	Resultados de la determinación de parámetros de calidad del extracto fluido de manzanilla, matico y marco. Realizado en el departamento de control de calidad del laboratorio Neo - Fármaco del Ecuador. Ambato. Mayo del 2009.....	82

CUADRO No. 9	Determinación de <i>rf</i> del extracto fluido de manzanilla, matico y marco. Departamento de control de calidad. laboratorio Neo - Fármaco del Ecuador. Ambato. Mayo del 2009.....	84
CUADRO No. 10	Determinación de la concentración de flavonoides (% quercetina) en el extracto fluido de manzanilla, mático y marco). A una λ 270 – 327 nm. Departamento de control de calidad del laboratorio Neo - Fármaco del Ecuador. Ambato. Mayo del 2009.....	85
CUADRO No. 11	Resultados del tamizaje fitoquímico en extracto fluido, de manzanilla, matico y marco. Realizado en el departamento de control de calidad. del laboratorio Neo - Fármaco del Ecuador. Ambato. Mayo del 2009.	86
CUADRO No. 12	Control de calidad de los excipientes para el gel antimicótico de manzanilla, matico y marco. Departamento de control de calidad del. laboratorio Neo - fármaco del Ecuador. Ambato junio del 2009.....	88
CUADRO No. 13	Control de calidad de los excipientes para el gel. antimicótico de manzanilla, matico y marco departamento de control de calidad. del laboratorio Neo - Fármaco del Ecuador. Ambato. Junio del 2009.....	89
CUADRO NO. 14	Control de calidad de los excipientes para el gel antimicótico de manzanilla, matico y marco departamento de control de calidad. del laboratorio Neo - Fármaco del Ecuador. Ambato. Junio del 2009.....	90
CUADRO NO. 15	Control de calidad de los excipientes para el gel antimicótico de manzanilla, matico departamento de control de calidad. del laboratorio Neo- Fármaco del Ecuador. Ambato. Junio del 2009.....	91
CUADRO No. 16	Control de calidad del alcohol potable utilizado para la obtención del extracto fluido para el gel antimicótico de manzanilla, matico departamento de control de calidad. del laboratorio Neo- Fármaco del Ecuador. Ambato. Junio del 2009.....	92
CUADRO No. 17	Determinación de parámetros físicos del gel antimicótico de manzanilla, matico y marco. Departamento de control de calidad del laboratorio farmacéutico Neo- Fármaco del Ecuador. Ambato. Junio del 2009.....	93
CUADRO No. 18	Determinación del pH del gel antimicótico de manzanilla, matico y marco. Departamento de control de calidad. del laboratorio farmacéutico Neo- Fármaco del Ecuador. Ambato. Junio del 2009. Del 2009.....	94

CUADRO No. 19	Determinación de extensibilidad del gel antimicótico de manzanilla, matico y marco. Departamento de control de calidad. del laboratorio Neo- Fármaco. Del Ecuador. Ambato. Junio 2009.....	94
CUADRO No. 20	Determinación de la viscosidad del gel antimicótico de manzanilla, matico y marco. Laboratorios de fluidos Facultad de Mecánica (ESPOCH). Junio 2009.....	95
CUADRO No. 21	Determinación microbiológica del gel antimicótico de manzanilla, matico y marco. Departamento de control de calidad. del laboratorio Neo- Fármaco del Ecuador. Ambato. Julio 2009.....	96
CUADRO NO. 22	Control organoléptico de las formulaciones en el primer mes de estudio de estabilidad Departamento de control de calidad. del laboratorio Neo- Fármaco del Ecuador. Ambato. Julio 2009.....	97
CUADRO No. 23	Resultados de los promedios de pH durante los tres meses de estudio de estabilidad. Departamento de control de calidad. del laboratorio Neo- Fármaco del Ecuador. Ambato. Julio 2009.....	98
CUADRO No. 24	Test de tukey al 95% de pH en gel sin antioxidante y con antioxidante durante los tres meses de estudio de estabilidad. Departamento de control de calidad. del laboratorio Neo - Fármaco del Ecuador. Ambato. Julio 2009.....	99
CUADRO No. 25	Test de tukey al 95% de pH para los geles envasados en tubos calapsibles de plástico y aluminio durante los tres meses de estudio de estabilidad. Departamento de control de calidad. del laboratorio Neo - Fármaco. Ambato. Julio 2009.....	99
CUADRO No. 26	Test de tukey al 95% de pH para los geles durante los tres meses de estudio de estabilidad tomando en cuenta su valor inicial. Departamento de control de calidad. del laboratorio Neo - Fármaco. Ambato. Julio 2009.....	100
CUADRO No. 27	Resultados de los promedios de extensibilidad durante los tres meses de estudio de estabilidad. Departamento de control de calidad. del laboratorio Neo- Fármaco del Ecuador. Ambato. Julio 2009.....	101

CUADRO No 28	Test de tukey al 95% de extensibilidad en gel sin antioxidante y con antioxidante durante los tres meses de estudio de estabilidad. Departamento de control de calidad. del laboratorio Neo – Fármaco del Ecuador. Ambato. Julio 2009.....	102
CUADRO No 29	Test de tukey al 95% de extensibilidad para los geles envasados en tubos calapsibles de plástico y aluminio durante los tres meses de estudio de estabilidad. Departamento de control de calidad. del laboratorio Neo - Fármaco. Ambato. Julio 2009.....	102
CUADRO No 30	Test de tukey al 95% de extensibilidad para los geles durante los tres meses de estudio de estabilidad tomando en cuenta su valor inicial. Departamento de control de calidad. del laboratorio Neo - Fármaco. Ambato. Julio 2009.....	103
CUADRO No 31	Resultados de los promedios de viscosidad durante los tres meses de estudio de estabilidad. Departamento de control de calidad. del laboratorio Neo- Fármaco del Ecuador. Ambato. Julio 2009.....	104
CUADRO No 32	Test de tukey al 95% de viscosidad en gel sin antioxidante y con antioxidante durante los tres meses de estudio de estabilidad. Departamento de control de calidad. del laboratorio Neo – Fármaco del Ecuador. Ambato. Julio 2009.....	105
CUADRO No 33	Test de tukey al 95% de viscosidad para los geles envasados en tubos calapsibles de plástico y aluminio durante los tres meses de estudio de estabilidad. Departamento de control de calidad. del laboratorio Neo - Fármaco. Ambato. Julio 2009.....	105
CUADRO No 34	Test de tukey al 95% de viscosidad para los geles durante los tres meses de estudio de estabilidad tomando en cuenta su valor inicial. Departamento de control de calidad. del laboratorio Neo - Fármaco. Ambato. Julio 2009.....	106
CUADRO No 35	Resultados de los promedios del porcentaje de quercetina durante los tres meses de estudio de estabilidad. Departamento de control de calidad. del laboratorio Neo- Fármaco del Ecuador. Ambato. Julio 2009.....	107

CUADRO No 36	Test de tukey al 95% del porcentaje de quercetina en gel sin antioxidante y con antioxidante durante los tres meses de estudio de estabilidad. Departamento de control de calidad. del laboratorio Neo – Fármaco del Ecuador. Ambato. Julio 2009.....	108
CUADRO No 37	Test de tukey al 95% del porcentaje de quercetina para los geles envasados en tubos calapsibles de plástico y aluminio durante los tres meses de estudio de estabilidad. Departamento de control de calidad. del laboratorio Neo - Fármaco. Ambato. Julio2009.....	108
CUADRO No 38	Test de tukey al 95% del porcentaje de quercetina para los geles durante los tres meses de estudio de estabilidad tomando en cuenta su valor inicial. Departamento de control de calidad. del laboratorio Neo-Fármaco. Ambato. Julio2009.....	109
CUADRO No 39	Resultados de control microbiológico una vez terminado el estudio de estabilidad, envase plástico. Departamento de control de calidad. del laboratorio Neo- Fármaco del Ecuador. Ambato. Julio2009.....	109
CUADRO No 40	Resultados de control microbiológico una vez terminado el estudio de estabilidad, envase aluminio. Departamento de control de calidad. del laboratorio Neo- Fármaco del Ecuador. Ambato. Julio2009.....	110

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA No 1	Estructura de un flavonoide.....	14
FIGURA No 2	Fórmula estructural propilparabeno.....	25
FIGURA No 3	Fórmula estructural metilparabeno.....	26
FIGURA No 4	Ecuación de Arrhenius.....	34
FIGURA No 5	Gráfico de estabilidad de método de Poppe.....	38
FIGURA No 6	Log% de grado vs. $1/T \times 10000$ para Fórmula No. 1 envase plástico.....	111
FIGURA No 7	Log% de grado vs. $1/T \times 10000$ para Fórmula No. 1 envase aluminio.....	112
FIGURA No 8	Log% de grado vs. $1/T \times 10000$ para Fórmula No. 2 envase plástico	114
FIGURA No 9	Log% de grado vs. $1/T \times 10000$ para Fórmula No. 2 envase aluminio.....	115

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No. 1	Planta de manzanilla, <i>Matricaria chamomilla</i> L.....	6
FOTOGRAFÍA No. 2	Planta de marco, <i>Ambrosia arborescens</i>	9
FOTOGRAFÍA No. 3	Planta de matico, <i>Aristiguietia glutinosa</i>	11
FOTOGRAFÍA No. 4	Cromatografía en capa fina.....	83
FOTOGRAFÍA No. 5	Actividad antimicótica.....	102
FOTOGRAFÍA No. 6	Elaboración del gel antimicótico sin antioxidante de manzanilla, matico y marco. Departamento de control de calidad del laboratorio Neo – Fármaco. Ambato. Junio 2009.....	127
FOTOGRAFÍA No. 7	Elaboración del gel antimicótico con antioxidante de manzanilla, matico y marco. Departamento de control de calidad del laboratorio Neo – Fármaco. Ambato. Junio 2009.....	128
FOTOGRAFÍA No. 8	Control microbiológico de la elaboración del gel antimicótico con antioxidante (EDTA) de manzanilla, matico y marco. Departamento de control de calidad. del laboratorio Neo - Fármaco. Ambato. Junio 2009.....	128
FOTOGRAFÍA No. 9	Estudio de estabilidad durante 3 meses. Departamento de control de calidad del laboratorio Neo - Fármaco. Ambato. Junio. 2009.....	129

INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales han sido utilizadas desde épocas primitivas en el tratamiento de enfermedades. La mayoría de éstas presentan efectos fisiológicos múltiples, debido a la presencia de más de un principio activo. Estos últimos corresponden a compuestos químicos propios de la planta, que están sometidos a variables físicas, tales como humedad del suelo, condiciones de luz, temperatura y otros. La incorporación de fitofármacos en el arsenal terapéutico de los laboratorios tradicionales, es otra señal que estimula el empleo de estos principios activos en el tratamiento de diversas patologías, tanto con fines preventivos como curativos (11).

Ahora bien, cuando hablamos de plantas medicinales debemos aclarar a qué nos estamos refiriendo. Lo que en la medicina alternativa se considera una planta puede que sea distinto lo que muchas personas consideran una planta. Cuando hablamos de plantas medicinales nos referimos a las hojas, corteza, raíces, polen, pétalos, semillas, frutos, y tallos de árboles, arbustos, algas, hongos, hierbas y otros tipos de representantes del reino vegetal. Como vemos, las plantas medicinales comprenden un espectro sumamente amplio. Estudiar y comprender todas las posibles aplicaciones de las plantas medicinales es una tarea gigante en la cual cada día se descubre algo nuevo. Sin embargo, hoy ya sabemos lo suficiente para concluir que usadas correctamente las plantas medicinales proveen alternativas para prevenir, y tratar numerosas condiciones de salud de forma efectiva y segura (11).

En la industria farmacéutica es evidente la evolución por la incorporación al campo de la salud de nuevos medicamentos que tienen como objetivo mejorar el nivel y la calidad de vida de las personas, de ahí que el Sudprograma X de Química Farmacéutica Fina y la Red Iberoamericana de Productos Farmacéuticos, estimulan la industrialización de plantas medicinales y el aprovechamiento al máximo de los recursos vegetales (10).

Los medicamentos, dentro de los procesos de fabricación y para asegurar la eficiencia de sus propiedades terapéuticas, deben cumplir criterios de calidad, eficacia, inocuidad, aceptabilidad y estabilidad durante todo el proceso de fabricación y en la administración al paciente, por lo tanto durante todo el periodo de validez del producto deben cumplir con las especificidades técnicas y farmacológicas establecidas, responsabilidad que recae en el farmacéutico (10).

Debido a que la micosis se le denomina como las distintas afecciones producidas por hongos los cuales ocasionan enfermedades tales como la candidiasis, la tiña y el pie de atleta, etc. En donde tienden a aumentar, y ocasionar infecciones desagradables, muchas veces resisten al tratamiento y, algunas, de características graves (17).

Entonces el desarrollo de un producto antimicótico que cumpla con los requisitos físico-químicos de calidad a partir de concentraciones adecuadas de extracto con plantas comunes de nuestro medio y sin un procedimiento demasiado complejo, será una alternativa válida de bajo costo, para combatir las infecciones causadas por hongos en la piel que se han constituido en un foco de diseminación en el hombre, siendo los responsables del desarrollo posterior de lesiones, problema que obliga a buscar estrategias de solución que permita un control de los agentes implicados y causales de estas enfermedades se elaborara un gel con propiedades antimicóticas que va ha cumplir los requisitos de calidad y seguridad exigido a todos los fitofármacos. De ahí su importancia de investigar el desarrollo del fitofármaco para el tratamiento de este problema (heridas superficiales), por su bajo costo en relación de los medicamentos de marca a través de un gel que contenga adecuadas concentraciones de extracto.

Los productos elaborados a base de plantas tienen menos efectos secundarios y, en general causan menos reacciones adversas que los productos farmacéuticos, y su empleo en la atención médica primaria puede lograr que se hagan ahorros en las cuentas destinadas a la atención médica en el país (**Phillipson JD**).

En este caso, los objetivos planteados para la presente investigación fueron:

1. Realizar el control de calidad de la droga cruda.
2. Obtener un extracto fluido de manzanilla, marco y matico.
3. Determinar concentraciones adecuadas para la mezcla de los extractos y realizar el control de calidad.
4. Formular un gel con los excipientes adecuados y las concentraciones correctas.
5. Elaborar un gel a partir del extracto obtenido.
6. Realizar el control de calidad durante el proceso y del producto terminado.
7. Evaluar la vida útil del gel antimicótico mediante estabilidad acelerada.

La hipótesis planteada en esta investigación fué: “El gel antimicótico elaborado de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), marco (*Ambrosia arborescens*) y matico (*Aristeguietia glutinosa*) cumplió con los requisitos físicos - químicos de calidad y estabilidad”.

CAPÍTULO I

1 MARCO TEÓRICO

1.1 LA FITOTERAPIA

La Fitoterapia es la ciencia que estudia la utilización de los productos de origen vegetal con finalidad terapéutica, ya sea para prevenir, para atenuar o para curar un estado patológico.

El retorno hacia el uso de los productos de origen natural en terapéutica, además del “ retorno a la naturaleza” que ha producido de forma general en la sociedad, como respuesta al daño ecológico y cultural que ha provocado el industrialismo, se ha visto favorecido por:

La cada vez numerosas evidencias de los graves efectos secundarios en fármacos de síntesis.

El avance químico, farmacológico y clínico del conocimiento en torno a los fitofármacos.

El desarrollo de nuevas formas de preparación y administración de los fitofármacos.

El desarrollo de métodos y técnicas que garantizan un mejor control de calidad (11).

Para definir las fronteras de la Fitoterapia en la terapéutica actual, debemos partir de las siguientes premisas.

- Natural no es sinónimo de inocuo. Esta premisa debe mantenerse aunque los fitofármacos en general, suelen tener rangos terapéuticos más amplios y de menos efectos secundarios que los fármacos sintéticos.

- Existencia real de conocimiento científico. Cada vez es mayor el número de revistas científicas especializadas que abordan esta temática, la infinidad de sitios webs de fitoterapia, incluso en universidades, y bases de datos que apoyan la eficacia de muchos fitofármacos para determinadas indicaciones (NAPRALERT – Universidad de Illinois, EE.UU.)

- Eficacia de fitofármacos. Debemos estar de acuerdo que la eficacia se consigue sólo con el uso adecuado de los fitofármacos, tanto en lo que se refiere a las indicaciones como a la forma de administración (11).

La base de los Fitomedicamentos o fitofármacos son los vegetales, el termino fitofármaco no debe confundirse con el de planta medicinal (10).

La Fitoterapia consiste en mantener la salud y tratar la enfermedad con drogas preparadas a base de vegetales o animales, y en muchos de los casos de los dos tipos obteniendo sus extractos y otros derivados. El aumento de la Fitoterapia en los últimos años se debe principalmente al alto nivel de conocimientos que, mediante estudios científicos, han demostrado las propiedades terapéuticas de los vegetales medicinales. Sin embargo no se debe auto – administrar preparaciones fitoterápicas, a menos que se este bajo supervisión estricta y monitoreo (11).

1.2 FITOMEDICAMENTOS O FITOFÁRMACOS

Son medicamentos obtenidos mediante modernas tecnologías de producción industrial. Se producen en varias formas: tabletas, grageas, cápsulas y líquidos. Según el criterio de expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) los medicamentos herbarios o fitomedicamentos se definen como:

Un producto medicinal elaborado con droga vegetal pura, preparados de extractos estandarizados obtenidos del insumo natural vegetal de uso en salud con actividad y seguridad farmacológica comprobada, cuya sustancia activa corresponde a alguna de las partes de dicho recurso o resulta de asociaciones, combinaciones o mezclas de extractos naturales estandarizados. Es presentado en forma farmacéutica y se administra bajo indicación terapéutica o con fines terapéuticos de corregir o modificar ciertas funciones fisiológicas del cuerpo, pueden ingerirse en condiciones específicas y sin supervisión médica. (10)

Los fitofármacos están elaborados a base de drogas vegetales, es decir de partes de la planta medicinal utilizada en terapéutica, (OMS, 1978), considerándose también como drogas vegetales terapéuticas, las plantas, partes de las plantas, algas, hongos o líquenes, enteros, fragmentos o cortados, sin procesar, generalmente desecados, aunque también a veces en estado fresco. También se consideran drogas vegetales ciertos exudados que no han sido sometidos a un tratamiento específico. (10)

Por ser utilizados con fines terapéuticos, los fitofármacos deben cumplir con las condiciones de: Calidad, Seguridad, Eficacia.

Las industrias farmacéuticas para sintetizar en el laboratorio un medicamento nuevo suelen partir de los principios activos y posteriormente proceden a "mejorar" su actividad, modificando su fórmula química o acompañándolos de otros principios sinérgicos (que potencian la acción), reguladores o correctores así como otras sustancias (naturales o no) cuyas características ya dependen de la forma de dosificación a utilizar (la llamada forma farmacéutica). (10)

En general, la tendencia actual de las industrias es fabricar los denominados fitofármacos, que pueden llegar a ser mezclas muy complejas de principios activos de fuentes naturales (plantas) de similar o diferente acción farmacológica destinados al tratamiento de determinadas patologías. En algunos casos corrigiendo las características indeseables como pueden ser el olor o el sabor desagradables (corrección organoléptica), en otros añadiendo drogas o principios demulcentes (suavizantes) a aquellos que son irritantes, etc (10) (11).

Un fitomedicamento siempre está constituido por una variedad de compuestos químicos de mayor o menor complejidad y son estos componentes los que interactúan con una gran diversidad de moléculas biológicas que pueden ser receptores de la membrana celular, sistemas transportadores de iones, enzimas, etc. Esta característica determina entonces que los fitofármacos no actúan por fuerzas inexplicables o desconocidas. Muy por el contrario, está cada vez más establecido que actúan por las mismas vías que lo hacen los medicamentos llamados convencionales y no pocas veces, a través de varias vías simultáneas, en lo que se denomina sinergismo (10).

Según la Norma Ecuatoriana los Fitoterápicos se definen como preparados basándose en plantas, a los que se les ha demostrado actividad terapéutica (por tradición, experimentación o clínica) y pueden ser de varias categorías:

Fitoterápico Categoría A: Producto respaldado por estudios farmacológicos y toxicológicos, experimentales preclínicos y clínicos (10) (11).

Fitoterápico Categoría B: Productos respaldados por estudios farmacológicos y toxicológicos, experimentales preclínicos (10) (11).

Fitoterápico Categoría C: Productos respaldados por referencias bibliográficas en uso tradicional en estudios de toxicidad aguda y que no se presenten en formas farmacéuticas definidas (10) (11).

1.3 PRODUCTO NATURAL

Toda sustancia o mezcla de sustancias de origen natural que tenga efecto terapéutico, preventivo o rehabilitatorio, que se presente en forma farmacéutica, que se identifique como tal por su actividad farmacológica, características físicas, químicas y biológicas.

Estos medicamentos son una parte estándar de medicina. El uso de dichos compuestos individuales y en combinación para pacientes se está reconociendo y un número aumentado de médicos los usan en medicina. Aunque existe la creencia que las preparaciones de plantas o en nuestro caso vegetal y animal pueden tener algún valor medicinal, también existe un riesgo de toxicidad (30).

1.4 PLANTAS MEDICINALES.

La etnobotánica trata del conocimiento botánico de las plantas por parte de las comunidades indígenas y comprende una estrecha relación entre las plantas y las personas que la utilizan.

Como planta medicinal se conoce a cualquier planta que en uno o más de sus órganos contiene sustancias que pueden ser utilizadas con finalidad terapéutica o que son precursores para la síntesis químico-farmacéutica. En la actualidad las plantas medicinales deben ostentar las consideraciones legales para la elaboración de los medicamentos (11).

1.5 MANZANILLA



FOTOGRAFÍA No. 1 PLANTA DE MANZANILLA, *Matricaria chamomilla* L.

1.5.1 ASPECTOS TAXONÓMICOS

Clasificación Botánica

Familia: *Asteraceae*

Genero: *Compositae*

Nombre Científico: *Matricaria chamomilla* L

Nombres Comunes: Manzanilla, Camomila, Matricaria

1.5.2 Descripción y Hábitat

Se trata de una planta herbácea anual perteneciente a la familia de las Compuestas, caracterizada por presentar una altura de 30 cm aproximadamente; tallo cilíndrico erguido, ramoso, de color verde blanquecino; hojas alternas divididas en pequeños segmentos lineales muy finos. Cada ramita presenta en su extremo el botón floral de color amarillo-dorado y lígulas de color blanco. Estas últimas corresponden a la parte unisexuada de la flor, mientras que la amarilla, ubicada en la zona central, es la parte hermafrodita. Los frutos son

pequeños, elipsoidales y de color pardo. Florece a partir de mes de abril y continúa su floración hasta la primavera (18).

1.5.3 Composición Química.

Las hojas y flores contienen aceite esencial (0.2-0.6%) compuesto por azuleno (26-46%), camazuleno (1-15%), guajazuleno, bisabol, bisabolol, cadineno, colina, cumarinas (hemiarina, umbeliferona), farneseno y furfural, sesquiterpenoides (-)-bisabolóxidos A, B y C), además glucósidos flavonoides (apigenina, apinina, patuletrina, rutina, luteol, luteolina, quercetol, quercetina, quercimeritrina), triacontano, antemidina, ácido antémico, spiroeter, taninos, mucílago urónico (10%), ácidos grasos, principio amargo, azúcar y sales minerales (19)

1.5.4 Propiedades y usos.

Las hojas y flores son ampliamente usadas para tratar una gran diversidad de males, tales como afecciones gastrointestinales (diarrea, dispepsia, flatulencia, gastralgia, gastritis, inflamación intestinal, parasitismo, indigestión, inapetencia), inflamación urinaria, amigdalitis, cefalea, convulsiones, difteria, dismenorrea, gota, histeria, insomnio, lumbago, ictericia e hidropesía, nerviosismo y reumatismo.

Tópicamente la decocción se usa en compresas, cataplasmas y emplastos para tratar afecciones dermatomucosas (hemorroides, hinchazón, llagas, raspones), inflamaciones, oftalmía, induraciones, tumores, cáncer y reumatismo.

Por vía oral se le atribuye propiedad anticatarral, antiemética, antiinflamatoria, aromática, calmante, carminativa, depurativa, diaforética, diurética, emenagoga, emoliente, espasmolítica, estimulante, estomáquica, expectorante, sedante, sudorífica y tónica, por vía

tópica se le atribuye propiedad antiséptica, antiflogística, antiinflamatoria, cicatrizante y vulneraria (17).

1.5.5 Toxicología.

El manejo de las flores puede producir dermatitis de contacto y reacciones alérgicas, aunque su frecuencia es sumamente baja. El uso excesivo de la infusión puede ser abortivo por ser un estimulante uterino, de donde está contraindicado su uso en embarazadas. Sus compuestos no son tóxicos, se ha demostrado una DL50 del extracto crudo de 670 mg/kg en ratón. El camazuleno tiene una DL50 de 3 g/kg por vía intramuscular en ratón blanco (17) (19).

1.5.6 Acción Farmacológica

Estudios antimicrobianos demuestran que la tintura de hojas es activa contra agentes causales de infección dérmica (*C. albicans*, *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*). El aceite esencial es activo contra *C. albicans*, *M tuberculosis*, *S. typhimurium* y *S. aureus*. El extracto acuoso es activo contra *M. cookei*.

El extracto de flores tiene actividad contra organismos fitopatógenos tales como: insecticida (*Blatta orientalis*, *Spodoptera litura*), contra ticks (*Dermacentor marginatus*, *Haemaphysalis punctata*, *Ixodes redikorzevi*, *Rhipicephalus rossicus*) y contra nemátodos (*Melodogyne incógnita*).

Estudios farmacológicos demuestran que la decocción de hojas por vía oral produce aumento del volumen urinario en ratas. El extracto etéreo por vía intraperitoneal en rata (40, 80 g/kg) inhibe simultáneamente el desarrollo de edema por dextran y los niveles plasmáticos de kininógeno, así mismo tiene efecto espasmolítico; el aceite esencial (100 ppm) disminuye el tono y peristaltis de intestino delgado de rata aislado, por vía oral (0.1

ml/kg) en perros o gatos aumenta la secreción biliar y los niveles de colesterol en la bilis. El extracto total inhibe el edema por crotón y muestra una reacción dosis-respuesta en la fracción lipofílica (DE50 de 374 (µg/oreja) y flavónica (193 (µg/oreja).

El extracto acuoso retarda el apareamiento de convulsiones inducidas por picrotoxina (6 mL/kg) inoculada intraperitonealmente en ratones y disminuye significativamente la mortalidad (17).

1.6 MARCO



FOTOGRAFÍA No. 2 PLANTA DE MARCO, *Ambrosia arborescens*

1.6.1 ASPECTOS TAXONÓMICOS.

Clasificación Botánica

Reino: *Plantae*

Familia: *Asteraceae*

Género: *Marco*

N. científico: *Ambrosia arborescens* o *Franseria artemisioides*

N. común: Altamisa, Marco, Marcu.

1.6.2 Descripción y hábitat:

Es un Arbusto de 0.50 a 1.50 m de altura, ramas imbricadas en la base, las superiores con cicatrices foliares.

Presenta capítulos unisexuales, monoicos de flores submasculinas indeterminadas en número, todas hermafroditas, estériles y de flores femenina, 1- 4 apétalas.

Es nativa de la Cordillera de América del Sur y crece entre los 2.500 y 3.000 metros sobre el nivel de mar. Crece en toda la región interandina del Ecuador, sobre todo en la región central y norte (17) (21).

1.6.3 Propiedades y usos

En infusión leve tiene propiedades emenagogas. El zumo tomado evita la formación de abscesos internos de origen traumático. La aplicación de hojas se emplea para moderar dolores y prolapso de hemorroides. La planta es también usada como repelente contra insectos y pulgas. Se coloca ramas debajo de la cama para ahuyentar las pulgas (17) (21).

1.6.4 Dosificación:

El marco debe usarse en dosis muy bajas puesto que puede causar síntomas de envenenamiento (21).

1.6.5 Composición Química.

Contiene alcaloides: encontrados principalmente en las flores femeninas.

Damsina y Coronofilina: en el extracto metanólico de las semillas. Shiramool, Damsina, coronofilina. Psilostachina: en el extracto hexánico de las hojas. Dióxido de bisaboleneo, 1(10),4-germacradien-6-ol y varias sesquiterpenlactonas que pueden ser las responsables de la actividad atribuida al marco. Los aceites esenciales de *F. artemisiodes* muestran la presencia de 3-careno, limoneno, p-cimeno, cariofileno, aloaromadendrano, humuleno, isoborneol, cariofileno-epoxido, carotol, germacranos (17) (21).

1.6.6 Actividad Farmacológica:

El marco presenta acción bactericida frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y sobre *Candida albicans* a 1000 g/ml.

De los compuestos del marco, el Shiramool y la coronopilina exhiben una potente actividad antialimentaria contra plagas que infestan cereales. Por otro lado, la psilostachina es activa frente a áfidos (*Macrosiphum euphorbiae*) y ácaros (*Tetranychus urticae*), mientras que la damsina muestra actividad antitumoral y moluscicida. Damsina y psilostachina exhiben efecto estimulante sobre la germinación de semillas a 0,14 g/mm² e inhibidor a 0.07 g/mm² (21).

1.7 MATICO



FOTOGRAFÍA No. 3 PLANTA DE MATICO, *Aristiguetia glutinosa*

1.7.1 ASPECTOS TAXONÓMICOS.

Reino: *Plantae*

División: *Angiospermae*

Clase: *Magnoliopsida*

Especie: *Aristiguetia glutinosa* o *Eupatorium glutinosum*

N. común: Matico, Hierba de soldado, Chuzalongo

1.7.2 Descripción Botánica

Se trata de arbustos perennes que alcanza una altura de 1 a 3 m de altura. Presentan ramas grises, hojas aromáticas, opuestas de color verde brillante, de 7 – 10 cm. de largo por 2.5 – 3.5 cm. de ancho, con bordes dentados y envés claro (albescente). Las flores son tubulares, en espigas solitarias, de tonalidad fucsia y brácteas marrón oscuro. El fruto es de color negro y contiene una semilla pequeña oscura en su interior.

Crece en la región interandina del Ecuador, entre 3.000 a 3.700 m sobre nivel del mar, así como también a la vera de los caminos, matorrales cordilleranos y plantaciones de piretro (21).

1.7.3 Propiedades y usos:

La medicina tradicional le atribuye propiedades variadas. Las hojas en decocción se usan como cicatrizante en el tratamiento de hemorragias, en lavados antisépticos sobre heridas y en infusión para evacuar cálculos biliares, para aliviar o curar enfermedades del tracto respiratorio (antiinflamatorio, expectorante y antitusígeno), en dolencias gastrointestinales ("empacho", diarreas agudas o crónicas) y tópicamente en infusión de las hojas para hacer gárgaras.

Es usada como emoliente y protector de la piel. Es comercializado con éxito el jabón antiséptico de matico.

Además a la infusión de estas hojas juntamente con otras como la zarzaparrilla se usa en lavados vaginales para aliviar los flujos blanquecinos causados por el parásito *Trichomonas vaginalis* o por la blenorragia y para aliviar las heridas de la provocadas por la sífilis (21).

1.7.4 Composición Química.

El componente activo más importante en la planta, desde el punto de vista cuantitativo, y al que se atribuye en parte sus virtudes cicatrizantes, es el tanino. Esta sustancia se encuentra en una concentración de 5,7%. También contiene cumarinas, flavonoides, alcaloides, esteroides, triterpenos, saponinas y fenoles. (23)(32).

1.7.5 Actividad Farmacológica:

Los estudios de laboratorio realizados, han confirmado la acción cicatrizante, antiinflamatoria, antiséptica del matico y como inhibe las bacterias (20 mg/mL) *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* y los hongos *Cryptococcus neoformans* y *Trichophyton mentagrophyte*.

Aunque no se conoce con exactitud la biotoxicidad de esta planta, la etnomedicina lo considera como una de las plantas con propiedades medicinales, que no produce efectos secundarios cuando se usa en la dosis adecuada (22) (28).

1.8 FLAVONOIDES

1.8.1 Descubrimiento

El primer flavonoide fue identificado en 1930 por el premio Nobel de Fisiología y Medicina Szent-Györgyi, quien aisló de la cáscara de limón una sustancia, la citrina, que probó regular la permeabilidad de los capilares al ser consumida.

Los flavonoides se denominaron al principio vitamina P (por permeabilidad) y también vitamina C₂, porque algunos tenían propiedades similares a la vitamina C. El hecho de que los flavonoides fueran vitaminas no pudo ser confirmado, y ambas denominaciones se abandonaron alrededor de 1950 (12).

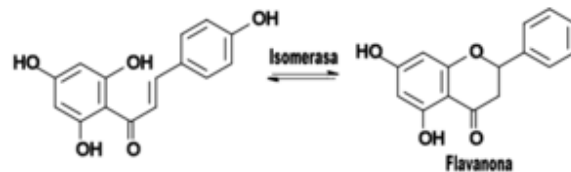


FIGURA No. 1 ESTRUCTURA DE UN FLAVONOIDE

Todos los flavonoides poseen las características de ser polifenólicos y solubles en agua. Poseen un máximo de absorción de luz a los 280 nm. (12)

1.8.2 EXTRACCIÓN Y ANÁLISIS

La espectrofotometría es útil para analizar la concentración de flavonoides en una sustancia.

Muchas veces esa medida se realiza acoplada a una separación cromatográfica como por ejemplo HPLC. (12)

1.8.3 Origen evolutivo

Los flavonoides aparecieron por primera vez en los ancestros de las embriofitas, que comprende al grupo monofilético de todas las plantas terrestres (musgos, helechos, gimnospermas y angiospermas). Se cree que fueron una de las adaptaciones clave para la transición a la vida terrestre desde el alga verde ancestral, debido a su capacidad de absorber la radiación ultravioleta, mucho más intensa en la atmósfera que en el agua.

Las enzimas de la biosíntesis de los flavonoides aparentemente derivaron de enzimas del metabolismo primario de las plantas, que tenían genes duplicados, lo que habrá permitido la adaptación de algunas de esas enzimas a otras funciones específicas.

La vía biosintética de los flavonoides se ha conservado enormemente en el transcurso de la evolución de las plantas, pero ha habido considerable divergencia tanto en los roles que fueron cumpliendo sus productos finales, como en los mecanismos que regulan su expresión (12) (13).

1.8.3.1 Ruta de biosíntesis de los flavonoides en las plantas.

La vía biosintética de los flavonoides comienza cuando la fenilalanina, por acción de la enzima fenilalanina amonioliasa (PAL) se transforma en ácido cinámico, que luego es transformado en ácido p-cumarínico por incorporación de un grupo hidroxilo a nivel de anillo aromático, y la acción de una CoA ligasa lo transforma en cumaril-SCoA, el precursor de la mayoría de los fenoles de origen vegetal, entre los que se encuentran los flavonoides (12).

1.8.3.2 Funciones en las plantas

- **Protección ante la luz UV.** Los flavonoides incoloros suelen acumularse en las capas más superficiales de las plantas y captan hasta el 90% de las radiaciones UV, impidiendo los efectos nocivos de estas radiaciones en los tejidos internos.
- **Defensa ante el herbivorismo.** Algunos flavonoides como los taninos, protegen a las plantas generando sabores desagradables para los herbívoros, principalmente amargos, o texturas que pueden resultar desagradables para los herbívoros, que se ven estimulados a elegir otras plantas.
- **Regulación del transporte de la hormona auxina.** Las plantas mutantes que no poseen la enzima chalcona, que forma parte de la vía biosintética de los flavonoides, muestran un crecimiento irregular debido a una deficiencia en el transporte de auxina a

través de la planta. Probablemente esa deficiencia se deba a la ausencia de ese flavonoide en la planta mutante (12) (13).

1.8.4 QUERCETINA

La quercetina se encuentra en las cebollas, las manzanas el té verde y el té negro .En cantidades más pequeñas, se encuentran también en las hortalizas de hoja y en los frijoles.

Los primeros estudios sugerían que en cantidades, la quercetina podía causar cáncer en animales. La mayoría, aunque no todos, los estudios actuales (aunque no todos) indican que la quercetina es segura e incluso la relacionan con un efecto protector contra el cáncer.

Algunos medicamentos pueden interactuar con quercetina. Para su seguridad consulte las interacciones con fármacos, para ver una lista de estos medicamentos.

Algunos médicos recomiendan tomar 200 – 500 mg de quercetina dos a tres veces al día. Se desconoce cuál es la cantidad óptima.

Para la prostatitis, se toman 500 mg dos veces al día durante un mes.

La absorción intestinal de la quercetina es bastante limitada. Por tanto, cabe la duda de si los suplementos de quercetina pueden producir niveles hísticos lo suficientemente altos como para tener algún efecto terapéutico.

(36)

1.9 ANTIMICÓTICOS.

Antifúngicos es una sustancia que elimina o detiene el crecimiento de hongos. Agente antifúngico o antimicótico engloba cualquier sustancia capaz de producir una alteración tal de las estructuras de una célula fúngica que consiga inhibir su desarrollo, alterando su viabilidad o capacidad de supervivencia, bien directa o indirectamente, lo que facilita el funcionamiento de los sistemas de defensa del huésped (22) (27).

1.9.1 CLASIFICACIÓN.

Los antimicóticos incluyen una amplia variedad de sustancias con diferentes estructuras químicas y mecanismos de acción.

Los antimicóticos pueden clasificarse según criterios convencionales que atienden con el grupo químico al que pertenecen en: polienos, azoles, alilaminas, entre otros (19); de acuerdo con su origen en sustancias producidas por organismos vivos o derivados de síntesis química; de acuerdo con su espectro de acción en: amplio o restringido y de acuerdo con el sitio de acción (22) (27).

1.9.2 HONGOS DERMATOFITOS.

1.9.2.1 Generalidades

La etimología del término dermatofito proviene de los términos griegos *derm* (que significa piel) y *phyte* (que significa planta). Sin embargo, debido a que los dermatofitos no están filogenéticamente relacionados con las plantas (como se creía antiguamente), este término puede considerarse como no adecuado en la actualidad (16).

Los dermatofitos son hongos patogénicos humanos y animales que causan infecciones cutáneas. Estos hongos crecen exclusivamente en el estrato corneo, uñas o pelo y producen enzimas hidrolíticas que degradan tejidos compactos queratinizados. Como muchos hongos los dermatofitos secretan sustancias con actividad proteolítica conteniendo proteína como única fuente de carbono y nitrógeno. Las infecciones producidas por estos hongos se denominan dermatofitosis (16).

1.9.2.1.1 Dermatofitosis

Existen tres subtipos o géneros: *Epidermophyton*, *Microsporum* y *Trichophyton*.

- *Epidermophyton*. Suele colonizar la piel lampiña. Nunca afecta al pelo, y de modo excepcional a las uñas.
- *Microsporum*: Es el causante de un tipo de tiña que provoca exantemas rojizos en la piel, y que cuando afecta la cabeza produce zonas de calvicie irreversibles.
- *Trichophyton*. El pie de atleta es una micosis también conocida como trífiosis, está causado por este tipo de hongo, que produce enrojecimiento, vesiculación y grieta en las zonas interdigitales de los pies. La candidiasis es una afección fúngica que se desarrolla en la mucosa vaginal producida por la levadura *Candida albicans* (16).

Las infecciones por *Cándida albicans* no dependen de un contagio externo ya que este microorganismo forma parte de la flora normal de la región genital, observándose que entre 20 al 60% de las mujeres sanas son portadoras intestinales y el alrededor del 10% son portadoras vaginales. El desarrollo de la infección es por la aparición de ciertos factores que favorecen el crecimiento del hongo.

La colonización de la vagina por la *Cándida albicans* es más común en mujeres en edad reproductiva que durante la pubertad y en la menopausia.

Las dermatofitosis pueden contagiarse de tres maneras: lo más frecuente, de otra persona (fómites o contacto directo), y con menos frecuencia, de animales y/o del suelo.

Existen una serie de factores que predisponen a padecer una dermatofitosis, como son; dermatitis atópica, inmunodepresión, tratamiento corticoideo y humedad (sudoración excesiva, oclusión, etc.) (16).

1.9.2.2 Dónde pueden aparecer.

Pueden localizarse en cualquier parte del cuerpo. Pueden afectar el cuero cabelludo y manifestarse como caspa, dermatitis seborreica. Otras veces pueden presentarse como manchas más o menos pigmentadas que el resto de la piel, de diferente extensión, en el cuello y el tronco.

También las micosis ocasionan fisuras interdigitales de las manos y los pies, lesiones rojizas y redondeadas en cualquier sitio, y zonas inflamadas en las axilas e ingles.

Existe una forma difícil de erradicar que es la onicomycosis, que compromete las uñas de los pies y, menos frecuentemente, las de las manos (31).

1.9.2.3 Síntomas que producen las micosis.

Las micosis corporales aparecen con una lesión visible, inflamatoria, que en el caso del "pie de atleta" produce picazón, olor desagradable, fisuras y favorece la infección bacteriana secundaria (31).

1.9.2.4 Dónde habitan los hongos.

La fuente de contaminación puede provenir de otro ser humano, de un vector animal (gatos, perros, conejos) o puede estar en la tierra. El hongo produce una forma de resistencia denominada espora y puede permanecer meses en un ambiente hasta que encuentra un lugar propicio donde desarrollarse (31).

1.9.2.5 Predisposición a tener micosis.

Como en toda enfermedad humana, se requieren dos condiciones para afectarse: primero la predisposición individual (en general, factores genéticos que se van transmitiendo de generación en generación, o factores ambientales que tiene mucho que ver con el hábitat de los hongos) y, segundo, el contacto con el agente infeccioso que produce la enfermedad.

El medio más propicio para la proliferación de los hongos es un entorno cálido y húmedo. Por dicha razón, las mencionadas micosis son más habituales en las zonas tropicales. Además, y en cualquier latitud, afectan las zonas del cuerpo más húmedas y sudorosas, o bien penetran el organismo al respirar o a través de cualquier herida (31).

1.10 TRATAMIENTO ANTIFÚNGICO

En la actualidad los antifúngicos son fármacos ampliamente distribuidos, con más de 100 presentaciones de preparados tópicos (cremas, gel, polvo, solución, spray). Los más empleados son los derivados azólicos. Comenzaremos recordando los principales grupos de antifúngicos (9).

- Antibióticos
- Polienos; anfotericina, nistatina, natamicina.

- No polienos: griseofulvina.
- Azoles
- Imidazoles: miconazol, clotrimazol, ketoconazol,
- oxiconazol.
- Triazoles: itraconazol, fluconazol, voriconazol, posaconazol,
- ravuconazol, etc...
- Alilaminas
- Terbinafina, butenafina y naftifina.
- Yoduro potásico, ciclopirox olamina, tolnaftato
- Otros

1.11 GELES.

Los geles son formas farmacéuticas de consistencia semirrígida, generalmente no tienen aceites grasos, destinados a aplicarse sobre las membranas mucosas, no tienen poder de penetración, por eso se utilizan para ejercer acción tópica (de superficie) (2) (7).

1.11.1 VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LOS GELES.

Ventajas

- Son bien tolerados
- Fácilmente lavables
- Producen frescor

Desventajas

- Incompatibilidad con numerosos principios activos
- Tendencia a la desecación
- Bajo poder de penetración (indicados para tratamientos superficiales)

1.11.2 CARACTERISTICAS DE UN GEL

Las características principales que posee un gel son:

- a) Estos tienen una consistencia semisólida o fluida.
- b) Su aspecto puede ser transparente o turbio.
- c) Presentan una estructura de tipo continua.
- d) Comportamiento pseudoplástico.
- e) El pH está entre 4,5 y 8,5. (24)

1.11.3 MECANISMO DE FORMACIÓN DE UN GEL.

Los productos gelificantes se pueden agrupar del siguiente modo:

- Polímeros que dan lugar a un gel dependiente del pH del medio.
- Polímeros que dan lugar a un gel por sí mismo, independiente del pH del medio.

Los primeros dan lugar a soluciones ácidas que al neutralizar con las bases adecuadas, aumentan la viscosidad y disminuyen la turbidez del medio. El mecanismo por el cual se forma el gel es el siguiente: a bajos valores de pH, se disocia una pequeña proporción de grupos carboxílicos del polímero, formando una espiral flexible. La adición de una base produce la disociación de grupos carboxílicos, ionizándose, creando repulsión electrostática entre las regiones cargadas, expandiéndose la molécula, haciendo más rígido el sistema,

gelificándolo. Se pasa de una estructura espiralada a una desenrollada o extendida, ejemplo Carbomer. Si se agrega un exceso de base puede producir una pérdida de viscosidad al neutralizarse los grupos carboxílicos (2) (24).

En función del dispersante, se dispone de diferentes tipos de gel:

1.11.4 CLASIFICACIÓN DE LOS GELES

Podemos clasificar los geles atendiendo a diversos aspectos:

a. Dependiendo de su comportamiento frente al agua.

Geles hidrófilos o hidrogeles: constituido por agua, glicerina, propilenglicol u otros líquidos hidrofílicos. Gelificados por sustancias de tipo poliméricas, goma tragacanto, almidón, derivados de la celulosa, polímeros carboxílicos o silicatos de aluminio y magnesio. (7)

Geles hidrófobos o lipogeles: llamados también **oleogeles**. Son geles constituidos por parafina líquida adicionada de polietileno o por aceites grasos gelificados por anhídrido silícico coloidal o por jabones de aluminio y zinc. Los lipogeles son vehículos oleosos oclusivos, de muy diversa consistencia, que los hace aptos para el tratamiento de dermatosis crónica, por su acción emoliente-lubricante. Estos vehículos son de elección debido a su inercia química, especialmente utilizados en los preparados oftálmicos, ya que los principios activos por sus características intrínsecas producen en el paciente un excesivo reflejo de lagrimeo, lo que lleva a un tiempo de permanencia muy corto en el lugar de aplicación. La formulación en el seno de un excipiente oleoso permite solventar este hecho.

A las bases hidrocarbonadas se les puede adicionar sustancias como ceras, lanolina, derivados de la lanolina y alcoholes grasos (cetílico y cetoestéarílico) (7).

Merecen especial mención dentro de este tipo de preparados los denominados Plastibases (N.R.), vehículos de consistencia de gel y reología plástica obtenidos por fusión a elevada

temperatura de parafina líquida y polietileno, seguida de un enfriamiento rápido. Estos preparados presentan características muy aceptables de extensibilidad y adherencia a la piel (7).

b.-Según el número de fases en que están constituidos.

Geles monofásicos: el medio líquido lo constituye una sola fase o líquidos miscibles; agua-alcohol, solución hidroalcohólica, aceite, etc (7).

Geles bifásicos: constituidos por dos fases líquidas inmiscibles, formándose una estructura transparente con propiedades de semisólido (7).

Clasificación de los geles bifásicos: se subdividen en dos grupos

- Los **TOW gels**
- Los **TAS gels**

a. Clasificación de los geles por su viscosidad.

- Geles fluidos
- Geles semisólidos
- Geles sólidos (formulación de los sticks desodorantes y colonias sólidas)

b. Clasificación de los geles por su estructura

Pueden ser geles elásticos y no elásticos.

- Geles elásticos
- Geles no elástico

c. En función de la naturaleza de la fase interna.

Inorgánicos:

- Como el magma de bentonita

Orgánicos:

- Naturales: como la goma arábiga y la gelatina
- Sintéticos: como la carboximetilcelulosa sódica e hidroxipropil celulosa.(6)

1.12 EXCIPIENTES.

Son sustancias auxiliares que ayudan a que el principio activo se formule de manera estable, eficaz y, sobre todo, seguras para el paciente. Estos excipientes se pueden clasificar de varias maneras, pero la más interesante es atendiendo a la función que realizan dentro del medicamento. Lo más frecuente es que una misma sustancia tenga más de una función; por ejemplo, el etanol ayuda a solubilizar principios activos parcialmente solubles en agua y además es un estupendo conservante. A continuación vamos a enumerar algunas de sus funciones y ejemplos de sustancias más o menos cercanas a nosotros e indispensables para formular un medicamento estable, seguro y eficaz (3) (4).

Los geles, que están formados en gran medida por excipientes, estas formas farmacéuticas pueden tener estructura de emulsión, de gel o de crema, pero la característica común es que suelen estar compuestas por fases acuosas y fases oleosas, que debido a emulgentes se interponen de manera estable. Su fabricación es algo parecido a hacer mayonesa, la fase acuosa es el vinagre, la fase oleosa es el aceite y el emulgente es la lecitina presente en la yema del huevo, cuando se agita, las diferentes fases se interponen y la lecitina hace que se estabilicen, dando lugar a esta mezcla homogénea. Bien, pues los excipientes de la mayoría de los geles y pomadas sufren un proceso parecido. La liberación del principio activo depende de la fase predominante, las fases acuosas predominan cuando queremos que el fármaco actúe a nivel externo, es decir en las capas superficiales de la piel. Pero si

necesitamos que el fármaco penetre bien o que este largo rato actuando, se buscan excipientes grasos, que formen una película oclusiva sobre la piel (3) (4).

1.12.1 PROPILPARABENO

Formula estructural (figura No):2

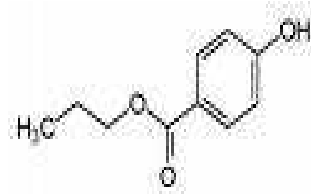


FIGURA No. 2 FÓRMULA ESTRUCTURAL PROPILPARABENO

Sinónimos: Propilparahi- Droxibenzoato, nipasol, protaben, paseptol, propil ester del ácido 4- hidroxibenzoico.

Fórmula química: HO-C₆H₄-CO₂C₃H₇

Punto de inflamación °C: 180

Masa molecular: 180 g/ mol

Punto de fusión: 95 - 98

Punto de ebullición: 130

Nombre CAS: 94-13-3

Características organolépticas: polvo cristalino blanco inodoro o con algún olor característico.

Descripción: Preservante, antimicrobiano

Principal uso y/o aplicación: Se utiliza como aditivo para preservar los productos en la Industria Farmacéutica, alimentaria veterinaria y cosmética. Para el tratamiento de aguas dosis usada y/o concentración: 0.02% junto Con metilparabeno al 0.18%.

Características: El propil parabeno es más eficaz que el metilparabeno en base a las ppm que se utilizan; para inhibir el crecimiento de las bacterias se necesitan hasta 1.000 ppm del propil parabeno y de 1.000 a 4.000 ppm del metil parabeno. Las bacterias Grampositivas son más sensibles que las Gramnegativas (2).

1.12.2 METIL PARABENO.

Formula estructural (figura No):3

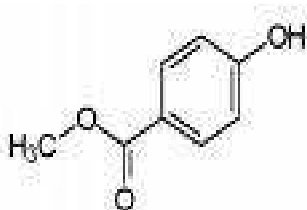


FIGURA No.3 FORMULA ESTRUCTURAL METIL PARABENO

Nombre sistemático: Metilparabeno Hidroxibenzoato

Fórmula química: HO-C₆H₄-CO₂CH₃

Masa molecular: 152g/mol

Punto de fusión: 125 – 128 °C

Características organolépticas: polvo cristalino blanco, inodoro o con algún olor característico, giroscópico.

Solubilidad: soluble en agua, alcohol, éter.

Descripción: Preservante

Principal uso y/o aplicación: Se utiliza para preservar los productos en la industria farmacéutica, alimentaria y cosmética.

Dosis usada y/o concentración: de 1.000 a 4.000 ppm (4).

1.12.3 CARBOPOL.

Descripción: El carbopol es un polímero del ácido acrílico, de alto peso molecular y carácter aniónico. En solución acuosa, hidroalcohólica y con distintos solventes orgánicos.

Viscosidad: 40.000 – 60.000 centipoises

Características organolépticas: polvo blanco fino incoloro.

Solubilidad: soluble en agua que tiene excelentes propiedades de suspensión, espesamiento y formación de geles (4).

1.12.4 TRIETANOLAMINA (TEA)

Nombre sistemático: 2,2',2'' nitritotrietanol

Familia química: Derivado del óxido de etileno.

Nombre común: Trietanolamina.

Número CAS: 102-71-6

Estado Físico: Líquido.

Color: líquido incoloro o amarillo pálido viscoso e giroscópico.

Olor: tiene un ligero olor amoniacal

Peso específico: 1,12 g/cc a 20 °C

No volátiles: 100 % Peso.

Temperatura de inflamación: 172,3 °C

Temperatura de descomposición: 269 °C

Solubilidad: miscible en agua y alcohol, soluble en cloroformo y ligeramente soluble en éter o benceno.

Principal uso y/o aplicación: como emulsificante detergente y plastificante ya que absorbe fácilmente el agua (3).

1.13 CONTROL DE CALIDAD

El concepto actual de calidad difiere notablemente del que existía hace unas décadas.

Entonces se buscaba sobretodo controles de calidad en las distintas fases de elaboración de formas farmacéuticas: control de materias primas y materiales de acondicionamiento, control en proceso y control en producto terminado. Si los diferentes controles de calidad resultaban correctos, se estimaba que la calidad del producto final era aceptable (2).

Hoy en día se considera que el sistema de control de calidad, por etapas ó sectorial, no es suficiente y lo que se intenta aplicar es el concepto de "**garantía de calidad**".

Este concepto abarca, además de los controles de calidad básicos, ya mencionados, el concepto de operar de acuerdo a unas normas que disminuyan el riesgo de errores en la

elaboración de medicamentos, y garantizar la obtención de un producto final con la calidad prevista durante el tiempo de validez establecido en el material de acondicionamiento (2)

Como conclusión, podemos decir que la garantía de calidad se puede definir como "la suma total de actividades organizadas con el objeto de garantizar que los medicamentos posean la calidad requerida para su uso previsto". Este sistema sustituye al concepto antiguo que suponía que la calidad era competencia únicamente del servicio de control de calidad del laboratorio farmacéutico. El objetivo del sistema de garantía de calidad es conseguir que todo salga bien desde el principio, con la ayuda de todo el personal que participa en las distintas fases de consecución de un producto farmacéutico (2).

Para conseguir un adecuado aseguramiento de la calidad, se han establecido unas normas que ya están vigentes en la industria farmacéutica a nivel ministerio, con la denominación en España de "Normas de Correcta Fabricación" (N.C.F.) y que tienen carácter obligatorio.

A nivel de la Oficina de Farmacia se han establecido las denominadas "Normas de Correcta Fabricación de Fórmulas Magistrales y Preparados Oficinales", que de momento tienen el carácter de recomendación con el fin de que el farmacéutico formulador se vaya adaptando progresivamente a una forma de operar homogénea para que al conseguir la mayor calidad posible en la elaboración de formulaciones magistrales y oficinales, cumplir con el mandato de la Ley del Medicamento (25/1990 del 20 de Diciembre) (2)

1.14 ESTABILIDAD DE MEDICAMENTOS

Estabilidad. Se la define como la extensión o el tiempo durante el cual un producto mantiene dentro de unos límites específicos y a través del período de almacenamiento y uso las mismas propiedades y características que poseía en el momento de su fabricación, esto es, sus características físicas, químicas, microbiológicas y biológicas.

Estudio de Estabilidad. Pruebas que se efectúan a un medicamento para determinar el período de caducidad y las condiciones de almacenamiento en que sus características

físicas, químicas, microbiológicas y biológicas permanecen dentro de límites especificados, bajo la influencia de diversos factores ambientales como temperatura, humedad y luz.(26)

1.14.1 MOTIVOS POR LOS QUE SE REALIZA UN ESTUDIO DE ESTABILIDAD.

- **RAZONES LEGALES.-** Este es un requisito establecido por las autoridades salud para establecer el periodo de vida útil del producto farmacéutico.
- **RAZÓN SANITARIA.-**Es necesario realizar este estudio, porque los productos de degradación del principio activo excipientes no siempre suelen ser inocuos.
- **RAZONES ECONÓMICAS.-** Si el producto sufre degradaciones físicas que afecten su presentación comercial, este ya no es aceptado por parte del paciente consumidor.(26)

1.14.2 DEFINICIONES BÁSICAS EN UN ESTUDIO DE ESTABILIDAD

- **T₉₀.** Es el tiempo necesario para que el principio activo llegue al 90% de su concentración.
- **PERIODO DE VIDA ÚTIL.-** Es el intervalo de tiempo desde la elaboración del medicamento hasta que ya no cumple con las especificaciones físicas, químicas y microbiológicas establecidas en farmacopeas oficiales.
- **FECHA DE CADUCIDAD.-** Es la fecha límite que pasada la cual ya no cumple con las especificaciones establecidas en farmacopeas oficiales (28) (29).

1.14.3 INESTABILIDAD DE MEDICAMENTOS

La inestabilidad de un medicamento se produce cuando se alteran las propiedades físicas, químicas y microbiológicas del mismo.

- La inestabilidad física se produce cuando se alteran las propiedades físicas del medicamento, como por ejemplo la separación de fases.

- La inestabilidad química se debe a reacciones químicas que se producen en el fármaco, como por ejemplo hidrólisis.
- La inestabilidad microbiológica es causada por la presencia de microorganismos en la forma farmacéutica (52).

1.14.4 CAUSAS DE INESTABILIDAD DE MEDICAMENTOS

Entre las principales causas para que un medicamento se vuelva inestable están las siguientes.

a) Temperatura.- Esta es una de las principales causas de alteración del medicamento ya que las reacciones de degradación del medicamento se incrementan al aumentar la temperatura. De manera general, por cada 10 °C de incremento de temperatura, la velocidad de reacción se duplica, esto depende del orden de reacción. También existen reacciones en que la temperatura no acelera la velocidad de reacción del principio activo; así en reacciones fotolíticas donde la energía de activación es muy baja, aproximadamente de 5 Kcal/mol y en reacciones pirrolíticas, las cuales tienen una energía de activación muy alta, aproximadamente de 50 Kcal/mol, este tipo de reacciones no se aplica en los productos farmacéuticos.

b) Humedad.- Es un factor que se puede encontrar tanto en la formulación del medicamento, como en el almacenaje del mismo, por ejemplo humedad en materia prima, o ambiental, en bodegas de almacenamiento. La principal consecuencia es una reacción de hidrólisis.

c) Oxígeno y otros gases.- La presencia de oxígeno el cual está en contacto con el fármaco, puede producir reacciones de oxidación degradando de esta manera a los compuestos de la formulación, el CO₂ en contacto con un medicamento puede causar alteraciones en el pH del mismo.

d) Radiaciones.- Un principio activo expuesto a radiaciones puede causar lecciones fotolíticas generando productos de degradación los cuales puede catalizar otros procesos secundarios, como son oxidación, polimerización.

e) Incompatibilidades.- Esto se produce cuando dos componentes de la formulación reaccionan generando una modificación de las propiedades físicas y químicas del medicamento.

f) Transporte.- En el proceso de transportación, el medicamento está sujeto a continuos cambios de temperatura y humedad, así como riesgos de rotura o golpeado de envases (52).

1.14.5 TIPOS DE ESTUDIOS DE ESTABILIDAD

Tenemos dos tipos de estudio.

- a) Estudios normales
- b) Estudios acelerado

a) ESTUDIOS NORMALES.- Estos estudios consisten en someter a la muestra a condiciones normales de temperatura y humedad de almacenamiento, se determina en forma periódica la degradación del principio activo; este es un método que nos permite determinaren una forma más exacta la vida útil del medicamento, sin embargo el gran inconveniente es el tiempo que demora el estudio.

b) ESTUDIOS ACELERADOS.- Este tipo de estudios se basan en el efecto de la temperatura sobre la velocidad de reacción. Consiste en someter la muestra a condiciones extremas de almacenamiento (Temperatura y humedad relativa), con el fin de acelerar a degradación química y modificación física se determina en forma periódica la concentración del principio activo. (52)

1.14.6 METODOS PARA REALIZAR EL ESTUDIO DE ESTABILIDAD

Los métodos más usados son:

- a) Método de Arrhenius.
- b) Método de Poppe.

a) MÉTODO DE ARREHENIUS

Este método es muy utilizado en estudios de estabilidad, se basa: en una reacción química soso las moléculas que tienen energía en exceso sobre un determinado nivel de energía denominado energía de activación; son las que intervienen en la reacción química y la magnitud de dicha energía depende de la naturaleza del proceso y el número de moléculas activadas varía de una reacción a otra, para que una molécula pueda adquirir energía adicional para reaccionar necesita de choque o intercambios entre las mismas.

La posibilidad de que una molécula tenga energía en exceso está dada por el factor de Boltzman:

$$K = A e^{-E/RT}$$

En donde:

K= Constante de velocidad

A= Frecuencia de colisión entre las moléculas.

E= Energía de activación.

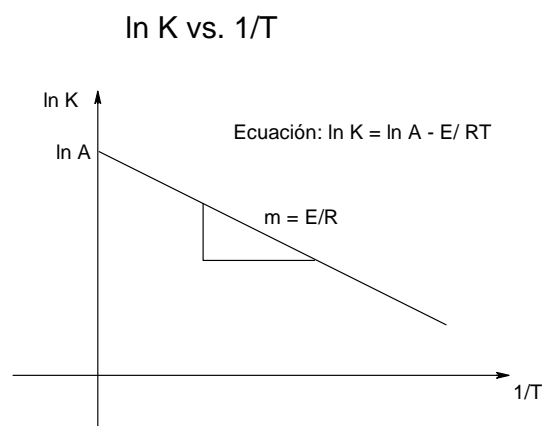
R= Constante de los gases.

T= Temperatura absoluta en grados Kelvin.

METODOLOGÍA

- Este sistema consiste en someter a la muestra en estudio a diferentes condiciones de temperatura y Humedad relativa; por lo general tres temperaturas y se determina periódicamente la degradación del principio activo de la formula.
- Se calcula la constante de velocidad cada temperatura.
- Se procede a graficar la ecuación de Arrhenius $\ln K$ vs. $1/T \times 10000$, y se calcula la constante K_{25} de degradación en el caso de Ecuador ya que se encuentra ubicado en Zona Climática IV para estudio de estabilidad.

Figura No 4 Ecuación de Arrhenius



A partir de la constante K_{25} se calcula el periodo de vida útil y la fecha de caducidad del producto.

b) MÉTODO DE POPPE

Es una variación del método de Arrhenius, es más práctico y seguro, no se necesita determinar el orden de reacción, no se necesita un porcentaje alto de degradación del principio activo.

Se basa determinar tablas de contingencia y determinar el porcentaje degradado del principio activo a diferentes temperaturas considerando energías de activación usuales para

productos farmacéuticos. Dependiendo del tiempo para el que se realicen las tablas de contingencia, se podrá estimar si el producto tiene determinados meses previamente establecidos de vida útil.

Este es un método muy utilizado en investigación y desarrollo de nuevos fármacos.

Este método se basa en la ecuación de Arrhenius:

$$K = (\kappa T / \eta) e^{-E_a}$$

En donde:

K = Velocidad de reacción.

κ = Constante de Boltzman 1.38×10^{-16} erg. °K

η = Constante de Plank 6.624×10^{-27} erg. s

E_a = Energía de activación.

METODOLOGÍA

– Se procede a elaborar la tabla de contingencia de la siguiente forma:

Basados en las dos ecuaciones:

$$K = (\kappa T / \eta) e^{-E_a}$$

$$K = A e^{-E/RT}$$

Igualemos ecuaciones y despejemos A:

$$A = \left[(1,38 \times 10^{-16}) \text{erg} \cdot \text{k} / (6,624 \times 10^{-27}) \text{erg} \cdot \text{seg} \right] T$$

$$A = \left((2,0833 \times 10^{10}) \text{K}^{-1} \cdot \text{seg}^{-1} \right) T$$

Calculando A, a dos temperaturas extremas 0°C Y 50°C tenemos:

$$A = \left((2,0833 \times 10^{10})^\circ K^{-1} \cdot \text{seg}^{-1} \right) \cdot 273^\circ K = 5,68741 \times 10^{12} \text{seg}^{-1}$$

$$A = \left((2,0833 \times 10^{10})^\circ K^{-1} \cdot \text{seg}^{-1} \right) \cdot 323^\circ K = 6,72906 \times 10^{12} \text{seg}^{-1}$$

Los datos de A se mantienen constantes a diferentes temperaturas, por lo cual tenemos:

$$K_1 = A_1 e^{-E_a/RT_1}$$

$$K_2 = A_2 e^{-E_a/RT_2}$$

Dividiendo y eliminando A tenemos:

$$\frac{K_1}{K_2} = e^{(E_a/R)(T_1-T_2)/(T_1-T_2)}$$

Aplicando logaritmos:

$$\ln \left(\frac{K_1}{K_2} \right) = \frac{(E_a/R)(T_1 - T_2)}{T_1 - T_2}$$

$$\ln K_2 = \frac{(E_a/R)(T_1 - T_2)}{T_1 - T_2} + \ln K_1$$

Posteriormente se calcula K_1 a una temperatura de 25°C, siguiendo una cinética de orden uno, y un tiempo de 24 meses.

$$\ln C = \ln C_0 - K_1 t$$

$$K_1 = \frac{\ln C_0 - \ln C}{t}$$

$$K_1 = \frac{0,105}{t}$$

$$K_1 = \frac{0,105}{24} = 4,38 \times 10^{-3} (\text{mes}^{-1})$$

Siguiendo a esto podemos calcular K_2 a 30°C tomando en cuenta las energías de activación de 10 Kcal/mol y 25 Kcal/mol:

$$\ln K_2 = \frac{(10000 / 1,987) \text{ cal.mol} / ^\circ K \cdot \text{ cal.mol} (303 - 298) ^\circ K}{(303 \times 298) ^\circ K} + \ln 4,38 \times 10^{-3} = -5,1499$$

$$\text{anti ln} - 5,1499 = 5,8 \times 10^{-3} \text{ mes}^{-1}$$

Este mismo cálculo se realiza para una energía de activación de 25 Kcal/mol a 30°C, y similar para 40°C y 50°C.

De esta manera obtenemos la siguiente tabla:

Tabla No.1 Valores de constantes para diferentes temperaturas y energías de activación del Método de Poppe

°C	°K	E_a 10 Kcal/mol (mes^{-1})	E_a 25 Kcal/mol (mes^{-1})
25	298	$4,38 \times 10^{-3}$	$4,38 \times 10^{-3}$
30	303	$5,80 \times 10^{-3}$	$8,81 \times 10^{-3}$
40	313	$9,86 \times 10^{-3}$	$3,32 \times 10^{-3}$
50	323	$1,62 \times 10^{-3}$	$1,15 \times 10^{-3}$

Una vez obtenidas las constantes procedemos a calcular el porcentaje remanente y el degradado:

$$C = C_0 e^{-kt}$$

$$C = 100xe^{(-4.39 \times 10^{-3})(3) \text{ meses}}$$

$$C = 98,69\% \text{ remanente}$$

$$\% \text{ deg radado} = 100 - 98,69 = 1,31\%$$

En donde:

C= Concentración final.

Co= Concentración inicial.

Una vez calculados todos los porcentajes, procedemos a elaborar la tabla de contingencia a partir de la cual graficamos la curva Log % degradado vs. $1/T \times 10000$.

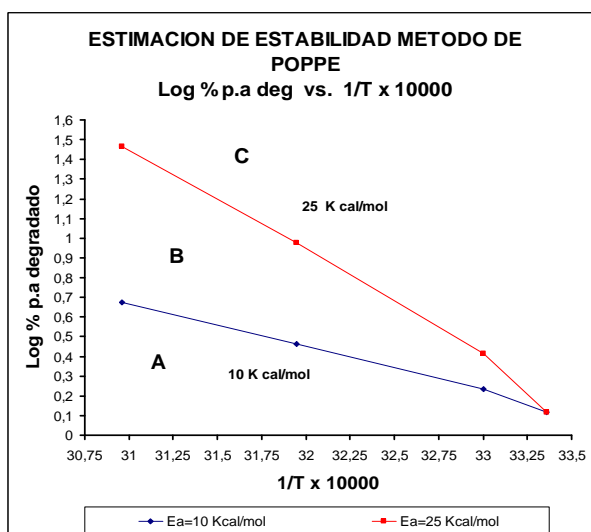


FIGURA No.5 GRÁFICO DE ESTABILIDAD DE MÉTODO DE POPPE

En base a la grafica se obtiene el periodo de vida útil del medicamento:

- Si se ubica en el área A, el producto tiene la probabilidad de tener un período de vida útil mayor a dos años.

- Si se ubica en el área B, el producto tiene buenas probabilidades de tener un período de vida útil de dos años.
- Si se ubica en el área C el periodo de vida útil del producto es muy probable que sea menor a dos años.

1.14.7 ZONAS CLIMATICAS EN UN ESTUDIO DE ESTABILIDAD

Debido a que un producto farmacéutico puede ser comercializado en cualquier parte del mundo, y por ende hay una gran variedad de tipos de clima, los estudios de estabilidad se dividieron en las siguientes zonas climáticas (55).

Tabla No 2 ZONAS CLIMÁTICAS PARA UN ESTUDIO DE ESTABILIDAD

ZONA	DESCRIPCIÓN	TEMPERATURA	HUMEDAD
ZONA I	Clima Templado	25°C+/- 2°C	45°C+/- 5°C
ZONA II	Mediterráneo	25°C+/- 2°C	60°C+/- 5°C
ZONA III	Caliente y seco	30°C+/- 2°C	35°C+/- 5°C
ZONA IV	Caliente y Húmedo	30°C+/- 2°C	70°C+/- 5°C

Ibid (54).2108 pp.

CAPITULO II

2 PARTE EXPERIMENTAL.

2.1 LUGAR DE INVESTIGACIÓN.

La presente investigación se llevó a cabo en el Departamento de Control de Calidad y Producción, de Laboratorios Neo - Fármaco del Ecuador ubicado en la ciudad de Ambato, y en los laboratorios de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.

2.2 MATERIALES EQUIPOS Y REACTIVOS.

2.2.1. MATERIAL BIOLÓGICO

Dos kilos de planta seca y pulverizada de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), marco (*Ambrosia arborescens*) y matico (*Aristiguetia glutinosa*). La materia prima fue adquirida de la bodega de los Laboratorios Neo – Fármaco

2.2.2 MATERIALES DE LABORATORIO.

- Vasos de precipitación
- Pipetas de 2, 5,10 mL
- Cápsulas de porcelana.
- Espátula

- Probetas
- Equipo de reflujo.
- Balones aforados de 25, 100 mL.
- Cajas petri de vidrio
- Asa de platino
- Erlenmeyer
- Tubos de ensayo
- Embudo
- Lámpara de alcohol
- Reverbero eléctrico
- Trípode
- Papel filtro
- Rollo de algodón
- Rollo de papel aluminio

2.2.3 EQUIPOS

- Extensómetro (RUEGER)
- Equipo de percolación
- Rotavapor (BAUSH LOMB)
- Auto clave (MARKET FORGE SLERILMATIC)
- Balanza de precisión (LARK)
- Balanza analítica (SARTORIUS)
- Agitador eléctrico de 220 voltios (RESTOSTAt)
- Estufa (HOECHST)
- Estufa bacteriológica (MMM- GROUP)
- Mufla (BARNSTEA THERMOLYNE)
- Refrigeradora (DUREX)
- Reverbero (HACEB)
- Potenciómetro (METROHN)

- Desecador (SOILTEST)
- Refractómetro (SAGRAN)
- UV (UPLAND)
- Espectrofotómetro
- Ultrasonido

2.2.4. REACTIVOS

- Agua destilada.
- Solución de clorhidrato de hiroxilamina.
- Tartrato de sodio y potasio.
- Solución de ditizona.
- Metanol.
- Ácido Clorhídrico 10% y 20%
- Hidróxido de Sodio 20%
- Peróxido de Hidrógeno 30%
- Etanol al 50 y 96%.
- Ácido sulfúrico concentrado.
- Reactivos específicos para la marcha fitoquímica.
- Agares para cada determinación de patógenos.

2.3 METODOLOGÍA

2.3.1 PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD DE LA ESPECIE VEGETAL.

El control de calidad de la droga se lo realizó considerando las metodologías de la OMS, y demás organismos encargados de asegurar la calidad de los productos fitofarmacéuticos.

Para el control de calidad de la droga cruda se realizan las siguientes pruebas:

- Determinación de la humedad

- Cenizas totales
- Cenizas solubles en agua
- Cenizas insolubles en ácido clorhídrico
- Determinación de sustancias solubles
- Determinación de metales pesados (Plomo)
- Determinación de microorganismos

2.3.1.1 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

De la muestra pulverizada se pesan 2g. con desviación permisible de 0.5 mg. y se transfieren a una cápsula de porcelana previamente tarada y desecada a 105 °C. hasta masa constante; seguidamente se deseca a 105 °C. Durante 3 h00. La cápsula se coloca en la desecadora donde se deja enfriar a temperatura ambiente y se pesa, colocándose nuevamente en la estufa durante 1h., volviéndose a pesar, hasta obtener una masa constante.

Expresión de los resultados.

$$\% H = \frac{M_2 - M_1}{M_2 - M} * 100$$

% H = pérdida en peso por desecación (%).

M₂ = masa de la cápsula con la muestra de ensayos (g.)

M₁ = masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g.)

M = masa de la cápsula vacía.

100 = factor matemático. (25)

2.3.1.2 DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES

Se determina la masa de 2.0 g. de la muestra de ensayo con una variación permisible de 0.5 mg. en un crisol de porcelana previamente tarado. Calentar suavemente la porción de

ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar y luego incinerar en un horno mufla a temperaturas de 700 a 750 °C. Durante 2h.

Se enfría el crisol en una desecadora y se pesa, repitiéndose el proceso hasta que dos pesadas sucesivas no difieran en más de 0.5 mg. por g. (masa constante).

Para obtener masa constante los intervalos entre calentamiento y pesada son de 30 min. Si el residuo presenta trazas de carbón, se le añaden unas gotas de solución de H₂O₂ concentrado, ácido nítrico o solución de nitrato de amonio al 10% y se calienta hasta evaporar los solventes. Al enfriar el crisol el residuo es de color blanco.

Expresión de los resultados:

$$\% C_T = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} * 100$$

%C_T = porcentaje de cenizas totales en base hidratada.

M = masa del crisol vacío (g).

M₁= masa del crisol con la porción de ensayo (g).

M₂= masa del crisol con la ceniza (g).

100= factor matemático para los cálculos. (25)

2.3.1.3 DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA.

A las cenizas totales obtenidas según el apartado anterior, se le añaden de 15 a 20 mL. de agua. El crisol se tapa y se hierve suavemente a la llama del mechero durante 5 min. La solución se filtra a través del papel de filtro libre de cenizas. El filtro con el residuo se transfiere al crisol inicial, se carboniza en un mechero y luego se incinera en un horno mufla de 700-750 °C., durante 2h. Posteriormente se coloca en una desecadora y cuando alcance la temperatura ambiente se pesa. Se repite el procedimiento hasta alcanzar peso constante.

Expresión de los resultados.

$$\% C_A = \frac{M_2 - M_a}{M_1 - M} * 100$$

$\% C_A$ = porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada.

M_2 = masa del crisol con las cenizas totales (g).

M_a = masa del crisol con las cenizas insolubles en agua (g).

M_1 = masa del crisol con la muestra de ensayo (g).

M = masa del crisol vacío.

100 = factor matemático. (25)

2.3.1.4 DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO

A las cenizas totales obtenidas según la técnica se le añaden de 2-3 mL de ácido clorhídrico al 10%. El crisol se tapa con un vidrio reloj y se calienta sobre un baño de agua hirviendo durante 10 min. Se lava el vidrio reloj con 5 mL de agua caliente y se une al contenido del crisol. La solución se filtra a través de un papel de filtro libre de cenizas; se lava el residuo con agua caliente hasta que el filtrado acidulado con ácido nítrico al cual se le añade una o dos gotas de solución de nitrato de plata 0.1M. No muestre presencia de cloruros.

El filtrado con el residuo se deseca de 100 a 105 °C., se transfiere al crisol inicial y se incinera en un horno mufla a una temperatura de 700-750 °C durante 2h00 (si no se señala otra temperatura en la norma específica) Posteriormente se coloca en una desecadora y cuando alcance la temperatura ambiente se pesa. Se repite el procedimiento hasta obtener masa constante.

Expresión de los resultados:

$$\%C_I = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} * 100$$

$\%C_I$ = porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada.

M = masa del crisol con la porción de ensayos (g.)

M_2 = masa del crisol con la ceniza (g.)

100 = factor matemático. (25)

2.3.1.5 DETERMINACIÓN DE SUSTANCIAS SOLUBLES

De la muestra de ensayo previamente pulverizada y tamizada se pesa 5 g y se transfiere a un frasco cónico con tapa con capacidad de 250 mL. Se añade 100 mL de agua y se agita constantemente durante 6 horas. Dejar en reposo 24 horas, luego se agita 30 min. y se filtra por papel. Se toma una alícuota de 20 mL, se transfiere a una cápsula de porcelana previamente tarada, evaporar sobre baño de agua, se deseca en estufa a 105 °C, durante 3 horas, se enfría en un desecador y se pesa. El ensayo se realiza por triplicado.

Expresión de los resultados.

$$\%S_s = \frac{R * 500 * 100}{M * (100 - H)}$$

$\%S_s$ = porcentaje de sustancias solubles en base hidratada.

H = Humedad de la muestra en %

R = Residuo de la muestra (g.)

M = Masa de la muestra de ensayo (g).

100 y 500 = factor matemático para los cálculos.

2.3.1.6 DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS

Se preparó un extracto etanólico y se tomó 20 mL. de esta solución, regulando su pH en un rango de 7-8 con solución de amoníaco. A continuación se añadió 2 mL. de solución de cianuro de potasio, 1 mL de solución de clorhidrato de hidroxilamina y 2 mL. de solución de tartrato de sodio y potasio. Después se agitó la mezcla fuertemente durante medio minuto con 5 mL de solución de ditizona. La fase orgánica separada se midió a 520 nm. en cubetas de 1 cm. tomando como solución de referencia tetracloruro de carbono.

La lectura se realiza en absorbancia y se obtiene el resultado por interpolación en la curva de calibración elaborada con los estándares respectivos.

2.3.1.7 ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICA DEL MARCADOR QUÍMICO: FLAVONOIDES TOTALES EXPRESADO COMO PORCENTAJE DE QUERCETINA.

- Mezclar 1 gramo de droga en polvo con 10 mL de metanol por 5 minutos en un baño de agua (60°C)
- Tomar 5 mL de la solución metabólica y concentrar hasta obtener 2 mL.
- Colocar 1 mL de agua y 10 mL de acetato de etilo, agitar por 10 minutos.
- Separar la fase de etil acetato y concentrar hasta obtener un volumen de 1 mL.
- Usar el concentrado para la cromatografía.
- Se aplica 10µL del concentrado en una placa cromatografía de sílica gel 60 F₂₅₄ con la ayuda de un capilar.
- Dejar secar después de cada aplicación.
- Se introduce la placa en la cuba cromatográfica, hasta que el solvente recorra las 3/4 partes de la placa.
- Retirar de la cuba y dejar secar para luego observar en la lámpara UV 365 nm,
- Reverla la placa y dejar secar, calentar en la estufa y anotar los R_f.

Adsorbente: Sílica gel 60 F₂₅₄ (Merck)

Sistema de solventes: Cloroformo – acetona - ácido fórmico (75:16.5:8.5)

Revelado: Ácido sulfúrico – vainillina.

CÁLCULO:

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida de la muestra}}{\text{Distancia recorrida del solvente}}$$

2.3.1.8 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES.

Para droga seca y para producto final:

- Se pesa 1g de muestra comprimidos y colocamos en un balón redondo de 250 mL.
- Añadir 20 ml. De etanol al 50 % y 8 mL de ácido sulfúrico concentrado.
- Reflujar por dos horas en baño de agua.
- Dejar enfriar y filtrar a través de filtro Buchner, utilizando papel de filtración
- Lavar el residuo con 10 mL. de etanol al 50% para desecharlo finalmente.
- El filtrado se evapora en baño de agua hasta la mitad del volumen inicial.
- Enfríar sobre un baño de agua fría durante 30 min.
- Filtrar, el papel con el residuo se lava con 70 mL. de etanol al 96% caliente a 50°C
- Se trasvasa a un balón volumétrico de 100 mL y se afora con etanol al 96%.
- Tomar una alícuota de 2 mL y llevar a un balón de 25 mL aforar con etanol al 96%
- Determinar la absorbancia a 258 nm.
- Como patrón se emplear 0.04 g. de quercetina, los cuales se debe disolver con etanol al 96% hasta completar un volumen de 50 mL., de esta solución tomar 1 mL. y se diluye a 100 mL. con etanol al 50%.
- El blanco consistió en una solución de etanol al 50%.

La expresión empleada para el cálculo fue la siguiente:

$$X = \frac{Am * Pr * 5}{Ar} * 100$$

Donde:

X = Contenido de flavonoides totales expresados como quercetina (%)

A_m = Absorbancia de la solución muestra (nm.)

P_r = Peso de la sustancia de referencia (g.)

A_r = Absorbancia de la solución de referencia (nm.). (28)

2.3.2 DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS CONTAMINANTES EN LA DROGA CRUDA.

2.3.2.1 MÉTODO DE CONTEO DE AEROBIOS MESÓFILOS TOTALES EN PLACA.

- Pesar 25 g. de materia prima vegetal en un erlenmeyer estéril.
- Agregar 250 mL. de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar; de este modo se obtiene una dilución de 10^{-1}
- Dejar reposar por 1 hora.
- De esta dilución, tomar 1 mL. y mezclar con 9 mL. de agua peptonada 0.1% y obtener una dilución de 10^{-2} . De este modo realizar otras diluciones.
- Se preparan tubos de ensayo tapa rosca con 15 mL. de medio de cultivo PCA (Plate count agar).
- A cada tubo con agar se adiciona 1 mL. de la dilución preparada en el agua peptonada al 0.1%.
- Homogenizar en un vortex, y el contenido de cada tubo verter en cajas petri.
- Incubar a $35 \pm 2^\circ\text{C}$. por 48 horas.
- Transcurrido este tiempo, realizar la lectura.

Contar las colonias que se desarrollan y se anota el resultado de las placas con mayor número de colonias. (7)

2.3.2.2 DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES.

a) PRUEBA PRESUNTIVA.

- Pesar 25 g. de materia prima vegetal en un erlenmeyer estéril.
- Agregar 250 mL. de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar. De este modo se obtiene una dilución de 10^{-1}
- Dejar reposar por 1 hora.
- De esta dilución, tomar 1 mL. y mezclar con 9 mL. de agua peptonada 0.1% y obtener una dilución de 10^{-2} .
- Colocar 1 mL. de cada una de las diluciones en 10 mL. de caldo lactosado.
- Incubar por 24-48 h. a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$.
- Observar si existe turbidez en el caldo lactosado y/o presencia de burbujas en la campana Durham (fermentación con formación de gas).

b) PRUEBA CONFIRMATORIA.

- De los tubos positivos en caldo lactosado tomar 2 o 3 asadas y sembrar en tubos
- 10 mL. de caldo BRILLA.
- Incubar por 24-48 h. a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$.
- Observar si existe turbidez en el caldo lactosado y/o presencia de burbujas en la
- campana Durham (fermentación con formación de gas).
- Los resultados se interpretaron según la tabla de NMP.

TABLA No. 3. CUADRO UTILIZADA PARA LA INTERPRETACIÓN DEL NMP PARA LA DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES.

COMBINACIÓN DE TUBOS.	NMP	COMBINACIÓN DE TUBOS.	NMP
0-0-0	< 3	3-0-0	23
0-0-1	3	3-0-1	39
0-1-0	3	3-0-2	64
1-0-0	4	3-1-0	43
1-0-1	7	3-1-1	75
1-1-0	7	3-1-2	120
1-1-1	11	3-2-0	93
1-2-0	11	3-2-1	150
2-0-0	9	3-2-2	210
2-0-1	14	3-3-0	240
2-1-0	15	3-3-1	260
2-1-1	20	3-3-2	1100
2-2-0	21	3-3-3	> 2.400

Fuente: Cáceres, Armando. Control de Calidad Microbiológico de Materia Prima y Productos Fitofarmacéuticos. Farmaya. Guatemala.

El número de microorganismos aceptados para este tipo de material es:

Para coliformes totales: 0-100 NMP/g. ACEPTABLE.
 100-460 NMP/g. REGULAR ACEPTABLE.
 > 460 NMP/g. INACEPTABLE/RECHAZADO.

Para coliformes fecales:	< de 10 NMP/g.	ACEPTABLE.
	> DE 10 NMP/g.	RECHAZADO. (2)

2.3.2.3 DETERMINACIÓN DE COLIFORMES FECALES.

a). PRUEBA PRESUNTIVA.

Se procede de igual forma que en la prueba presuntiva para Coliformes totales.

b). PRUEBA CONFIRMATORIA.

- De los tubos positivos en caldo lactosado tomar 2 ó 3 asadas y sembrar en tubos 10 mL. de caldo EC.
-
- Incubar por 24-48 h a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$.
- Observar si existe turbidez en el caldo lactosado y/o presencia de burbujas en la campana Durham (fermentación con formación de gas).
- Los resultados se interpretaron según la tabla de NMP. (7)

2.3.2.4 INVESTIGACIÓN DE SALMONELLA.

- Pesar 25 g. de la muestra y colocar en 225 mL. de Caldo de Soya Trypticasa.
- Incubar a 35°C . por $24 \pm 2\text{h}00$.
- Transferir 0.1 mL. a 10 mL. de caldo tetrionato. Incubar en baño de agua a 42°C . por 18-24 horas.
- Del caldo de tetrionato sembrar $10\mu\text{L}$. en agar XLD, HE y BS, incubar a 35°C por $24\pm 2\text{h}00$.
- Examinar en las cajas para ver si hay presencia de colonias que pueden ser Salmonella.
- Morfológicamente las colonias de Salmonella se ven de la siguiente forma:

- En agar HE: colonias azules o verde azuladas con la presencia o no de centro negro. Muchos cultivos de Salmonella pueden producir colonias grandes, con centros de brillo negro o también pueden aparecer colonias completamente negras.
- En agar XLD: Colonias rosadas con o sin centros negros. Muchos cultivos de Salmonella pueden producir colonias grandes con centros negros brillantes o pueden aparecer colonias completamente negras.
- En agar BS: Colonias cafés, grises o negras; algunas veces con brillo metálico. Alrededor del medio se forma al principio una coloración café, pero a medida que aumenta el tiempo de incubación, se produce un efecto llamado halo.
- Si las colonias típicas están presentes en el agar BS luego de la incubación por 24 horas, coger con un asa 2 o más colonias.
- Sembrar en Agar BS e incubar otras 24±2 horas adicionales.
- Luego de las 48 horas de incubación, tomar 2 o más de las colonias típicas y transferirlas al agar inclinado TSI y/o LIA. Incubar los tubos a 35°C. por 24±2h00.
- Si no hay crecimiento en los tubos, se descarta la presencia de Salmonella.
- En el tubo con TSI, el apareamiento de coloración roja en el medio (alcalinidad), y/o la producción de H₂S (ennegrecimiento del agar) nos confirma la presencia de Salmonella.
- En el medio LIA las colonias típicas de Salmonella, producen alcalinidad (coloración púrpura) en el medio. La mayoría de los cultivos de Salmonella, producen H₂S en LIA.
- Las pruebas confirmatorias se realizan mediante determinaciones bioquímicas (MR-VP, Simmons citrato, Urea, Indol, etc) y/o con reacciones serológicas somáticas utilizando suero polivalente para Salmonella (7).

2.3.2.5 MÉTODO DE CONTEO DE MOHOS EN PLACA.

- Pesar 25 g. de materia prima vegetal en un erlenmeyer estéril.
- Agregar 250 mL de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar; de este modo se obtiene una dilución de 10⁻¹.
- Dejar reposar por 1 hora.
- De esta dilución, tomar 1 mL. y mezclar con 9 mL. de agua peptonada 0.1% y obtener una dilución de 10⁻².

- Preparar cajas petri con medio de cultivo OGY.
- Sobre las cajas petri colocar 0.1 mL. de las diluciones respectivas y extender
- mediante un extensor de vidrio.
- Incubar a temperatura ambiente por 5-7 días.
- Realizar el contaje.

El recuento del número de colonias formadas no debe ser mayor de 100 Colonias/caja. (7)

2.3.3 PREPARACIÓN PARA LA OBTENCIÓN DEL EXTRACTO FLUIDO

Método por percolación.

Mézclese cuidadosamente la droga molidas con suficiente cantidad de alcohol de 96° a fin de que quede uniforme y apreciablemente humedecida, déjese en reposo durante 15 minutos transfírase a un percolador apropiado comprímase la droga firmemente . Vierta suficiente cantidad del mensturo de alcohol de 96° para saturar la droga tapase la boca del percolador y cuando el líquido este a punto de gotear; ciérrese el orificio inferior del percolador y déjese macerar la droga por espacio de 24 horas.

Se abre el orificio de salida y se deja salir el percolado a la vez que se añade más mensturo, estableciendo un flujo de 3-5 mL/minuto hasta obtener una primera fracción de 85% de extracto, los que se guarda en un recipiente.

Se detiene la extracción y con el volumen de mensturo requerido, se macera durante 24 horas y e hace una extracción de 1 L del extracto. Este proceso se repite por segunda vez. Los últimos 2 L de extracto obtenido se reúne y se concentra a una temperatura que no exceda los 60°C hasta obtener el volumen requerido (15% restante, e prefiere la concentración por vacío).

Este extracto blando se mezcla con la primera fracción obtenida y si fuese necesario se añade mensturo hasta el volumen del extracto fluido. Se deja reposar en un recipiente bien cerrado de la siguiente manera:

- De 8-10°C No menos de 4 días.
- De 15-20°C 15 días
- Temperatura ambiente 30 días.

2.2.3 CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTOS

2.3.4.1 DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA.

Para esta prueba se tomó una alícuota de 25 mL del extracto y se lo puso en un vaso de precipitación de 50 mL. Para determinar el análisis sensorial de: color, olor, turbidez, aspecto. (25)

2.3.4.2 Determinación del pH.

La acidez o la alcalinidad de las soluciones acuosas se caracterizan por el valor del índice de hidrógeno, pH. El pH es por tanto un índice numérico que se utiliza para expresar la mayor o menor acidez de una solución en función de los iones hidrógenos. Se calcula teóricamente mediante la ecuación:

$$\text{pH} = - \log a [\text{H}^+]$$

$a [\text{H}^+]$ = actividad de los iones hidrógeno

En la práctica la medición del pH se lleva a cabo por medio de la lectura de pH en la escala de un instrumento medidor de pH, ya sea igual o analógico. Esta lectura está en función de la diferencia de potencial establecida entre un electrodo indicador y un electrodo de referencia usando como solución de ajuste de la escala del medidor de pH, una solución reguladora del mismo.

Ajuste el equipo con la solución reguladora de pH adecuada al rango en que se realizará la determinación. Posteriormente determínese el valor del pH de la muestra.

2.3.4.3 Determinación de la densidad relativa.

Se entiende por densidad relativa a la relación entre masa de un volumen de la sustancia a ensayar a 25°C y la masa de un volumen igual de agua a la misma temperatura. Este término equivale a peso específico.

Primeramente pésese el picnómetro vacío y secos 2° C y llénese con la porción de ensayo, manténgalo a la temperatura de 25 °C (1°C) durante 15 min. y ajústesele el liquido al nivel empleado, si es preciso, una tira de papel para extraer el exceso secar exteriormente el picnómetro.

Se pesa cuidadosamente el picnómetro con la porción de ensayo y se repite la operación con el agua destilada a 25 °C, después de limpio el picnómetro.

Expresión del resultado:

La densidad relativa a 25 °C se calcula por la siguiente fórmula:

$$D_{25} = \frac{M_1 - M}{M_2 - M}$$

Donde:

M_1 = peso del picnómetro con la muestra (g)

M_2 = peso del picnómetro con la muestra (g)

M = peso el picnómetro vacío (g)

Los resultados se aproximan hasta la tercera cifra.

2.3.4.4 Determinación Del Índice De Refracción.

Se procedió a medir directamente la muestra en el refractómetro. La fórmula utilizada es la siguiente:

$$n_d^{20} = n^t + 0.00044(T - 20)$$

Donde:

$(n)^{20}$: índice de refracción corregido.

$(n^T)^d$: índice de refracción determinado.

0,00044 y 20: factores de corrección matemático

T: temperatura a la que se realiza la lectura.

2.3.4.3 Determinación de Sólidos totales:

Transferir a una cápsula previamente tarada, 5 mL de muestra y llevar a baño maría, completar la evaporación en estufa a 105°C. por 3 horas, pesar las cápsulas, y repetir el procedimiento hasta peso constante con intervalos de 30 minutos. Los resultados se expresan en porcentaje de sólidos totales y se reportan en cifras enteras, según fórmula:

$$St = \frac{Pr - P}{V} \times 100$$

Donde:

Pr = masa de la cápsula más el residuo (g).

P = masa de la cápsula vacía (g).

V = volumen de la porción de ensayo.

100 = factor matemático para el cálculo. (25)

2.3.4.5 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

– ENSAYO DE DRAGENDORFF.

Utilizado para detectar la presencia de alcaloides se debe tomar en cuenta que si el extracto está disuelto en solvente orgánico, este debe evaporarse en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de ácido clorhídrico al 1 % en agua. Si se trata de un extracto acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado, (calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez).

Para el ensayo, a la solución acuosa ácida se le añade 3 gotas del reactivo de Dragendorff, y se observa:

- Opalescencia : (+)
- Turbidez definida: (++)
- Precipitado : (+++)

– ENSAYO DE MAYER.

Se procede de la forma descrita previamente. A la solución ácida se le adiciona una pizca de cloruro de sodio en polvo, se agita y se filtra. Al filtrado adicionar 2 ó 3 gotas de la solución reactiva de Mayer. Tras observación se reporta de la siguiente manera:

- Opalescencia: (+)
- Turbidez definida: (++)
- Precipitado abundante: (+++)

En el caso de alcaloides cuaternarios y/o amino-óxidos libres, éstos sólo se encontrarán en el extracto acuoso y para considerar su presencia la reacción debe ser (++) ó (+++), en todos los casos, ya que un resultado (+), puede provenir de una extracción incompleta de bases primarias, secundarias o terciarias.

- **ENSAYO DE WAGNER.**

Se parte de la solución ácida, de igual forma que en los casos anteriores. A esta solución, se le adiciona 2 ó 3 gotas del reactivo de Wagner y se reporta los resultados de igual forma que en la reacción anterior.

- **ENSAYO DE BALJET.**

Es útil para reconocer la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular Cumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar resultado positivo.

Si la alícuota de la muestra a probar no está en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en 1 mL de alcohol. Seguidamente, se añade 1mL del reactivo. La prueba es positiva, cuando aparece una coloración o precipitado de color rojo (++ y +++) respectivamente.

- **ENSAYO DE BORNTRAGER.**

Es útil para detectar la presencia de quinonas.

Si la alícuota no está en cloroformo debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o amonio al 5 % en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su ulterior separación. El ensayo es positivo cuando la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado, en este caso se reporta (++) o rojo, para lo cual se reporta (+++).

- **ENSAYO DE LIEBERMAN-BUCHARD.**

Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides, en ambos tipos de productos debe poseer un núcleo del androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6.

Para ello, si la alícuota no se encuentra en cloroformo debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL. de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayo se dejan resbalar

2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración:

- Rosado-azul muy rápido.
- Verde intenso-visible aunque rápido.
- Verde oscuro-negro-final de la reacción.

El tercer cambio generalmente ocurre cuando el material evaluado tiene cantidades importantes de estos compuestos.

Para realizar este ensayo no puede haber agua en el medio de reacción pues ésta con el ácido sulfúrico reacciona de forma violenta y puede ocurrir un accidente.

La reacción de Liebermann-Burchard es también utilizada para diferenciar las estructuras esteroidales de los triterpenoides, las primeras producen coloraciones azul o azul verdoso, mientras que para las segundas se observa rojo, rosado o púrpura. Estas coloraciones pueden variar por interferencias producidas por carotenos, xantofilas y esteroides saturados que puedan estar presentes.

- **ENSAYO DE RESINAS.**

Para detectar este tipo de compuesto, adicione a 2 mL. de la solución alcohólica, 10 mL. de agua destilada. La aparición de un precipitado, indica un ensayo positivo.

- **ENSAYO DE FEHLING.**

Permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de

agua y el residuo redisolverse en 1-2 mL. de agua. Se adicionan 2 mL. del reactivo y se calienta en baño de agua 5-10 minutos la mezcla. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo. El reactivo se prepara de la siguiente forma:

Solución A: Se pesa 35 g. de sulfato cúprico hidratado cristalizado y se disuelve con agua hasta un volumen total de 1000 mL.

Solución B: Se pesa 150 g. de tartrato de sodio y potasio y 40 g. de hidróxido de sodio y se disuelve con agua hasta un volumen total de 1000 mL.

Las soluciones se tienen preparadas de forma independiente y se mezcla igual cantidad en volumen de cada una de ellas justo en el momento de realizar el ensayo. Dicha mezcla es la que se adiciona a la alícuota a evaluar.

- **ENSAYO DE ESPUMA.**

Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esteroideal como triterpénica. De modo que si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 minutos.

El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm. de altura y persistente por mas de 2 minutos.

- **ENSAYO DEL CLORURO FÉRRICO.**

Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal. Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. A una alícuota del extracto alcohólico se le adicionan 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0.9 % en agua). Si el extracto es acuoso, el ensayo determina

fundamentalmente taninos. A una alícuota del extracto se añade acetato de sodio para neutralizar y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica, un ensayo positivo puede dar la siguiente información general:

- Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general.
- Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.
- Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos.

- **ENSAYO DE SHINODA.**

Permite reconocer la presencia de flavonoides en un extracto de un vegetal. Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 mL. de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen. Si la alícuota del extracto se encuentra en agua, se procede de igual forma, a partir de la adición del ácido clorhídrico concentrado.

El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intensos en todos los casos.

- **ENSAYO DE GELATINA.**

Sobre el extracto etanólico se añade solución de gelatina (1%) que contiene además NaCl, da la formación de un precipitado de taninos (5).

- **ENSAYO DE PRINCIPIOS AMARGOS Y ASTRINGENTES.**

El ensayo se realiza saboreando 1 gota del extracto acuoso o del vegetal y reconociendo el sabor de cada uno de estos principios bien diferenciados al paladar. (26).

2.4.1 CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXCIPIENTES.

Los excipientes utilizados en la elaboración del gel antimicótico son los siguientes:

TABLA No. 4 LISTA DE EXCIPIENTES UTILIZADOS PARA LA ELABORACIÓN DEL GEL ANTIMICOTICO, CON SUS RESPECTIVOS PROVEEDORES.

EXCIPIENTES	ADQUISICIÓN	PROVEEDOR
Trietanolamina	Lab. Neo Fármaco	Quibeco
Dimeticona	Lab. Neo Fármaco	Resiquin S.A.
Carbopol 940	Lab. Neo Fármaco	Quibeco
Propil parabeno	Lab. Neo Fármaco	Resiquin S.A.
Metilparabeno	Lab. Neo Fármaco	Quibeco
EDTA	Lab. Neo Fármaco	Quibeco

- **Trietanolamina (TEA) ----- (Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos V Edición).**

Su nombre químico es 2,2',2" Nitrilotrietanol, Se usa principalmente como detergente, emulsificante y plastificante ya que absorbe fácilmente el agua.

Descripción.- Líquido incoloro o amarillo pálido, viscoso e giroscópico que tiene un ligero olor amoniacal. Se forma café por exposición a la luz y aire.

Solubilidad.- Miscible con agua y alcohol, soluble en cloroformo y ligeramente soluble en éter o benceno.

Identificación.- Calentar 1 mL de la muestra lentamente en un tubo de ensayo los vapores cambian el color del papel tornasol rojo a azul.

Mezclar 1 mL de la muestra con 1 mL HCl la temperatura de fusión del precipitado obtenido después de lavarlo con alcohol y secarlo es de 178°C aproximadamente.

Gravedad específica.- Entre 1.120 y 1.128.

Índice de refracción.- Entre 1.482 y 1.485.

Residuo de Ignición.- No más de 0.1%.

Valoración.- Para trietanolamina $C_6H_{15}NO_3$ mezclar 500 mg de la muestra con 5 mL de solución 2M de HCl evaporar a sequedad en BM. Agitar el residuo 2 propanol pasar a un crisol de vidrio sinterizado tarado y lavar el disco y residuo con 3 porciones de 5 mL de 2-propanol. Secar el residuo a 105°C hasta peso constante y agregar una corrección de 0.2 mg por mL de propanol empleado. Cada gramo es equivalente a 803.5 mg de $C_6H_{15}NO_3$ (trietanolamina).

– **Carbopol ---- (USP XXIII- Farmacia Remington 17ava edición.)**

Es una mezcla de resinas solubles en agua que tienen excelentes propiedades de suspensión; espesamiento y formación de geles. Es muy usada en la industria cosmética. Es blanco y su presentación es un polvo. El alcohol polivinílico, polimeros de oxido de etileno y la polivinilpirrolidona son componentes del carbopol.

Carcomer 940 es un polímero de alto peso molecular una mezcla de ácido acrílico unido con éteres de sacarosa.

Carcomer 940, previamente secado en vacío a 80°C por 1 hora, no contiene menos de 56.0 por ciento y no más de 68 .0 por ciento de los grupos de ácidos carboxílicos (-COOH).

Descripción.- Polvo blanco. Fino incoloro.

Identificación.- Preparar una dispersión 1:100 con NaOH para producir un gel viscoso de pH 7.5.

Preparar una dispersión 1:100 a la una porción añada un azul timol TS y se produce una coloración naranja. Al la otra porción se añade rojo cresol TS y se produce una coloración amarilla.

Viscosidad.- Entre 40.000 y 60.000 centipoises.

Perdida por secado.- Secar al vacío a 80°C por 1 hora. No más que 2.0% de su peso inicial.

Metales pesados.- Máximo 0.002% .

Valoración del contenido de ácidos carboxílicos.- 56.0 – 68.0 % de ácidos carboxílicos.

Pesar 400 mg previamente y adicionar 400 mL de agua con agitación constante a 1000 rpm, en un ángulo de 60°. Continué agitando por 15 minutos.

Reduzca la velocidad de la agitación titule potenciométricamente con hidróxido de sodio 0.25N usando un electrodo de calomel. Después de 1 minuto de mezcla, luego de cada adición de NaOH registre el pH. Calcule el contenido de ácidos carboxílico como % por la siguiente fórmula $\% = 100 (45.02VN/\text{peso de la muestra})$.

Ensayo Microbiológico.- Ausencia de salmonella y E.Coli .

– **Metilparabeno sódico ---- (USP XXIII- Farmacia Remington 17ava edición.)**

Se usa como preservativo en gel, en otros productos cosméticos y en ciertos casos en alimentos. Su presentación se da en cristales incoloros.

Descripción.- Polvo cristalino blanco, inodoro o con algún olor característico, higroscópico.

Solubilidad.- Soluble 1 g en 400 mL de agua en 3 mL de alcohol y 10 mL éter, soluble en glicerina, aceite y grasa, tetracloruro de carbono, benceno.

Punto de fusión.- entre 125 – 128 °C.

Identificación.- En espectro infrarrojo absorbe a la misma longitud que la de referencia.

Índice de acidez.- El filtrado neutralizar y enfriado de la solución de 750 mg de muestra, al añadir NaOH 0.1N y 2 gotas de rojo de metilo. La solución es amarilla.

– **Propil parabeno sódico ----- (USP XXIII- Farmacia Remington 17ava edición.)**

Descripción.- Polvo cristalino blanco, inodoro o con algún olor característico, higroscópico.

Solubilidad.- Soluble 1 en 1 de agua 1 en 5^a de alcohol y 1 en 2 de alcohol al 50%
Prácticamente insoluble en aceites.

Identificación.- Disolver 0.5 g de muestra en 5 mL de agua acidificar con HCl y filtrar el precipitado resultante. Lavar este con agua y secarlo sobre sílica gel durante 5 horas, la absorción en el espectro IR de una dispersión en aceite mineral exhibe un máximo a la misma longitud de onda que lo hace el estándar USP de metilparabeno sódico.

Llevar a ignición cerca de 0.3 g de muestra enfriar y disolver el residuo en 3 mL de HCl 3N. Esta solución impregnada en un asa de platino imparte un intenso y persistente color amarillo a la llama.

pH.- Entre 9.6 y 10 .5 en una solución 1:100.

Agua.- No más que 5%.

Cloruros.- Una porción de 0.2g presenta no más cloruros que los presentes en 0.1 mL de HCl 0.02N (0.25%).

Sulfatos.- Una porción de 0.25g presenta no más sulfatos que los presente en 0.3 mL de H₂SO₄ 0.02N (0.12%)

Valoración.- Contiene no menos de 98.5 y no más de 101.5 % de $C_{10}H_{11}NaO_3$.

– **Alcohol etílico (alcohol potable) ----- (USP/ XXIII – BP 88- Farmacia Remington 17ava Edición.)**

Descripción.- Líquido incoloro, claro transparente, móvil y volátil, hierve alrededor 78°C, olor característico sabor quemante, rápidamente inflamable, arde con una llama azul.

Solubilidad.- Miscible con agua, éter y cloroformo.

Identificación.- Mezclar 5 gotas de alcohol con 1 mL de una solución acuosa 1:10 permanganato de potasio y 5 gotas de solución 2 n de H_2SO_4 tapar el vaso inmediatamente con un papel filtro humedecido con una solución recientemente preparada por disolución de 0.1 g de nitroferriicianuro de sodio y 0.25 g de piperazina en 5 mL de agua. Se Produce un intenso color azul sobre el papel filtro. El color empieza a palidecer después de algunos minutos.

Acidez o Alcalinidad.- 20 mL de muestra no requiere más 0.2 mL de NaOH 0.1N para un color rosado con solución de fenolftaleína y no más de 0.1 mL HCl 0.1 N para dar un color rojo con solución de rojo metilo.

Densidad específica.- a 20°C de 0.819 a 08139

Grado alcohólico.- Alcoholímetro de Gay Lussac.

2.4.2 DETERMINACIÓN DE LAS CANTIDADES Y TIPOS DE EXCIPIENTES ADECUADOS PARA LA FORMULACIÓN DE LOS GELES ANTIMICÓTICOS.

2.4.2.1 Preparación Del Gel Sin Antioxidante.

Para la preparación de un lote de un litro de gel antimicótico al 25 % partimos de la siguiente fórmula:

INGREDIENTES	CANTIDADES
Carbopol 940 NF	20,8 g
MPB (Metil parabeno sódico) NF	0.800g
PPB (Propil parabeno sódico) NF	0.080g
TEA (trietanolamina)	26 g
Dimeticona	10,0
Agua	960 mL
Extracto fluido de (Manzanilla,Matico,Marco)	25 g

2.4.2.1.1 Proceso de preparación del gel.

- Calentar 960 mL de agua destilada a 80°C e incorporar el propil parabeno y el metil parabeno, agitar hasta completa disolución y enfriar a temperatura ambiente.
- Adicionar carbopol 940 con agitación constante hasta formación de un gel homogéneo el cual se deja en reposo 24 horas de anticipación para lograr una buena hidratación, esta solución coloidal tiene un pH de 3.0.
- Seguidamente añadir Dimeticona.
- Adicionar TEA con movimiento lento procurando no incorporar burbujas de aire hasta que adquiriera características de gel o pH de 6.5.
- Finalmente se incorpora el extracto antimicótico al 25%.
- Envasar en envases de plástico y aluminio y etiquetar.

2.4.2.2 Preparación Del gel con antioxidante.

Para la preparación de un lote de un litro de gel antimicótico al 25 % partimos de la siguiente fórmula:

INGREDIENTES	CANTIDADES
Carbopol 940 NF	20,8 g
MPB (Metil parabeno sódico) NF	0.800g
PPB (Propil parabeno sódico) NF	0.080g
TEA (trietanolamina)	26 g
Dimeticona	10,0
Agua	960 mL
EDTA	0.500g
Extracto fluido de (Manzanilla, Matico, Marco)	25 g

2.4.2.2.1 Proceso de preparación del gel.

El proceso de la preparación del gel antimicótico con antioxidante es similar al expuesto en la preparación del gel antimicótico sin antioxidante pero con la adición de un antioxidante en este caso EDTA (Edetato Disódico).

2.4.3 CONTROL DE CALIDAD DE LOS PRODUCTOS TERMINADOS

2.4.3.1 Control de calidad del gel.

El control de calidad de producto terminado tiene como propósito determinar si una forma farmacéutica posee los atributos de calidad previamente establecidos. Estos atributos buscan poder conseguir en último término que el medicamento cumpla el objetivo para el cual fue diseñado de manera segura y eficaz.

– Determinación Organoléptica Del Gel

Al gel se procede a analizar el aspecto, color, olor, sabor.

Aspecto: Es un gel homogéneo untuoso al tacto, libre de grumos. al ser analizada mediante visualización directa.

Color: verde que se determina por el tinte que presenta el gel

Olor: Característico a la plantas

– **Determinación de la presencia de grumos en el gel**

Tomar una pequeña cantidad de crema con los dedos y aplicar suavemente en el dorso de la mano y observar si hay la presencia o ausencia de grumos

– **Determinación de untuosidad al tacto del gel.**

Tomamos una pequeña cantidad de gel con los dedos y aplicamos suavemente en el dorso de la mano y observamos si hay la presencia de arenosidad.

– **Determinación del pH**

Se mide en el medidor del pH previamente calibrado con soluciones tampón de pH 4 y 7.

Sacar el electrodo del tampón lavar con agua destilada y secar con papel filtro.

En otro vaso se coloca la muestra (gel) e introducir el electrodo limpio homogenizar y determinar el pH.

Anotar los resultados.

– **Determinación de la Extensibilidad del gel.**

Bajo la denominación de extensión o extensibilidad de un gel se entiende su capacidad para ser aplicado y distribuido uniformemente sobre la piel.

Se pesa 0.2- 0.02 g de muestra a 25°C se presiona entre dos superficies de vidrio sobre las cual se adiciona una pesa de 100 g durante 1 minuto. El área originada es la variable respuesta (Extb.)

– **Determinación de la viscosidad del gel.**

Tomamos una muestra representativa del gel e introducimos en el viscosímetro, sometemos a la acción de la temperatura del baño maría a 25°C y tomar el tiempo desde el punto de partida hasta la señal indicada en el viscosímetro.

2.4.3.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

– **Test para conteo total de microorganismo aeróbicos.**

Asépticamente transfiera 10 g de la muestra en un contenedor adecuado conteniendo peptona, Tween, peptona o TAT (Azoleccitina tripticasa caldo con Tween) y ajuste el volumen a 100 mL si es necesario ponga esta mezcla en un baño a 40 – 45 °C por más de 10 minutos.

Mezcle bien en un vortex mixer.

– **Contaje de bacterias.**

Transferir 1 mL de la mezcla de 100 mL a dos cajas petri por separado, entonces añadir unos 20 mL de TSA (Trypticase soya agar) a cada caja. Mover la caja con movimientos de rotación, para obtener una buena mezcla de la muestra con el agar.

Dejar solidificar e invertir las cajas, incubarlas de 30 – 35 °C por 48 horas a 5 días o más tiempo si es requerido.

– **Contaje de hongos.**

Proceder como en el punto anterior pero en lugar de usar TSA añadir SAB. (Sabourad dextrosa agar) e incubar de 20 – 25°C por 5 – 7 días.

Al final del periodo de incubación cuente el número de colonias y reporte el promedio de bacterias u hongos encontrados por gramo de muestra.

2.5 ENSAYOS DE LOS GELES ANTIMICOTICOS FRENTE A *Candida albicans* ATCC 10213.

2.5.1 ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA

2.5.1.1 MÉTODO DE MITSCHER *et al* (15).

La actividad antimicótica “*in vitro*” de los Flavonoides presentes en el extracto fluido, gel sin antioxidante, y gel con antioxidante de Manzanilla, Matico y Marco al 25% se evaluó contra *Candida albicans* en agar Müller Hinton observando la densidad del crecimiento, que puede ser abundante, parcial o ausente. Se preparó 25 mL de caldo soya tripticasa (TSB), que fue repartido en un matraz de 125 mL Posteriormente se preparó 100 mL de agua destilada estéril y 50 mL solución salina al 0,9 %; repartiéndose 10 mL de la solución en tubos de ensayo tapa rosca 150 x 15 mm. El conjunto se autoclavó a 121 °C por 15 minutos. Se llevó a temperatura ambiente el matraz con 25 mL de TSB estéril, codificado con el nombre del microorganismo ATCC y la fecha de siembra.

Con una asa esterilizada a la llama, enfriada se tomó una asada de *C. albicans* del tubo inclinado y se transfirió al matraz codificado, se incubó a 37 °C por 24 horas.

Se preparó agar Müller Hinton que fue repartido en tubos de ensayo con tapa 150 x 15, esterilizado a 121 °C por 15 minutos y manteniendo fluido en baño maría a 45 °C hasta el momento de empleo. Se sometieron a ensayo a una concentración del 25% del extracto y gel Con precisión en un vial, limpio, seco y estéril.

Se mezcló con la ayuda de un vortex e inmediatamente se pasó a las cajas petri previamente codificadas con el nombre del extracto y gel a una concentración del 25%.

Una vez solidificado el medio de cultivo conteniendo el material vegetal se invirtieron las cajas petri y dejaron a temperatura ambiente por 18 a 24 horas. Las cajas petri preparadas no deben mostrar contaminación, si la tienen se desecha y se debe repetir con más cuidado.

Siembra de las cajas:

Se preparó a partir del cultivo caldo soya tripticasa visiblemente turbio, pipeteando 1 mL de suspensión en 10 mL de solución salina estéril. La suspensión de *C. albicans* debe ser equivalente al tubo 0,5 (densidad celular 1.5×10^8 / mL), de la escala Mc Farland. A partir de esta suspensión se tomaron inóculos para estriar cajas petri que se incubaron a 37 °C por 24 a 48 h.

La actividad se manifestó por ausencia de crecimiento visible en las cajas estriadas con la levadura (A). La presencia de poco crecimiento microbiano se califica como parcialmente activo (P). Un crecimiento abundante corresponde a un compuesto inactivo (I).

Las cajas petri de control deben tener la apariencia esperada (crecimiento de *C. albicans* en las cajas de control negativo) de no ser ha si el experimento ha fallado y debe ser repetido.

La presencia de pocas colonias en el estriado es señal de resistencia. La presencia de pocas colonias aisladas en la caja lejos de la parte donde se estrió, es señal de contaminación y generalmente se ignoran.

2.6 ESTUDIO DE ESTABILIDAD ACELERADA

2.6.1 CONTROL ORGANOLÉPTICO

2.6.1.1 NOMENCLATURA

Tabla No.5 Nomenclatura utilizada

TIEMPO	FORMULACIÓN	ENVASE
T₁:Un mes	F₁:gel sin antioxidante	E₁:Envase plástico
T₂:Dos meses	F₂: gel con antioxidante	E₂:Envase de aluminio
T₃:Tres meses		

2.6.1.1.1 Control Organoléptico de las formulaciones en producto terminado.

Al gel se procede a analizar el aspecto, color, olor, sabor a las temperaturas de 20 °C; 30 °C y 40 °C con una humedad relativa de 70% durante los siguientes tiempos:

- Una vez elaborados
- Treinta días
- Sesenta días
- Noventa días

2.6.2 CONTROLES FÍSICOS.

Se analiza: pH, Viscosidad, Extensibilidad en los diferentes tiempos y temperaturas indicadas para la estabilidad acelerada de geles.

2.6.3 CONTROLES QUÍMICOS

Cuantificar Flavonoides (% Quercetina) después de someter los geles a las diferentes temperaturas en cada uno de los tiempos establecidos.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

En este capítulo se expondrán en cuadros, los datos experimentales y los resultados obtenidos en la elaboración del control de calidad de la droga cruda, extracto fluido, gel y respectivo análisis de estabilidad del producto final.

3.1 CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA.

Se realizó el control de calidad de las plantas estipulado según la Norma Ecuatoriana Fitoterápicos y la OMS (1998).

3.1.1 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD

CUADRO N o 1. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE HUMEDAD EN MANZANILLA MATICO Y MARCO COMO MATERIA PRIMA. REALIZADO EN EL DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO DEL ECUADOR. AMBATO. ABRIL DEL 2009.

HUMEDAD	%	LÍMITES
MANZANILLA	7.46	7-14%
MATICO	9.80	
MARCO	7.37	

En el presente cuadro No 1 se puede apreciar el porcentaje de humedad en el cual se tuvo un valor de 7.46% para la manzanilla, en el matico el 9.80 % y en el marco el 7.37% valores que se encuentra dentro de las especificaciones dadas por la Norma Ecuatoriana

Fitoterápicos, para evitar el crecimiento bacteriano y que se puede dar paso al uso requerido.

3.1.2. DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES

CUADRO N o 2. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE CENIZAS EN MANZANILLA, MATICO Y MARCO COMO MATERIA PRIMA. REALIZADO EN EL DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO DEL ECUADOR. AMBATO. ABRIL DEL 2009.

CENIZAS TOTALES	%	LÍMITES
MANZANILLA	8.66	Max 12%
MATICO	8.98	
MARCO	6.55	

El porcentaje de cenizas totales de las especies vegetales es un indicativo del contenido total de minerales en la muestra, por lo que al observar los resultados del cuadro No 2 para la manzanilla es de 8.66%, matico el 8.98% y para el marco es de 6.55% valores que se encuentran dentro de los límites establecidos por OMS (1998) y USP (2001).

CUADRO No. 3 RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA EN MANZANILLA, MATICO Y MARCO COMO MATERIA PRIMA. REALIZADO EN EL DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL LABORATORIO NEO-.FÁRMACO DEL ECUADOR. AMBATO. ABRIL DEL 2009.

CENIZAS SOLUBLES EN AGUA	%	LÍMITES
MANZANILLA	3.75	Max 7%
MATICO	2.92	
MARCO	3.55	

El porcentaje de cenizas solubles en agua presentes en el cuadro No. 3 para la manzanilla es de 3.75 %, para el matico el 2,92% y para el marco es de 3,55 % los cuales se encuentran dentro de los límites establecidos máximo hasta 7 Mostrándonos que corresponde a material de tipo orgánico.

CUADRO No 4. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO EN MANZANILLA, MATICO, MARCO COMO MATERIA PRIMA. REALIZADO EN EL DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL LABORATORIO NEO.-.FÁRMACO DEL ECUADOR. AMBATO. ABRIL DEL 2009.

CENIZAS INSOLUBLES EN AGUA	%	LÍMITES
MANZANILLA	1.56	Max 5%
MATICO	1.17	
MARCO	1.44	

Los valores de la determinación de cenizas solubles en ácido clorhídrico presentados en el cuadro No. 4 para la manzanilla es de 1.56 %, matico el 1.17 % y para el marco es de 1.44% los cuales se encuentran dentro de los límites establecidos por OMS (1998) y USP (2001).Indicándonos así que no existe la presencia de arena o tierra.

3.1.3 DETERMINACIÓN DE SUSTANCIAS SOLUBLES

CUADRO No 5. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE SUSTANCIAS SOLUBLES EN MANZANILLA COMO MATERIA PRIMA. REALIZADO EN EL DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL LABORATORIO NEO.- FÁRMACO DEL ECUADOR. AMBATO. ABRIL DEL 2009

CENIZAS SUSTANCIAS SOLUBLES	%
MANZANILLA	6.59
MATICO	5.92
MARCO	5.37

Los resultados expresados en el cuadro No.5, nos indica que el contenido de sustancias solubles en agua presentes en la manzanilla es de 6.59 %, en el matico presentando un valor de 5.92% y en el marco 5.37 % indicando que en la manzanilla existe una mayor cantidad de porcentaje de sustancias solubles en agua posiblemente de naturaleza glucosídica.

3.1.4. DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS.

La determinación de plomo dio negativa mediante la técnica colorimétrica. Esta prueba se determinó para descartar la presencia de este metal tóxico, lo cual indica contaminación por gasolina con plomo que es usual para cultivos ubicados en zonas cercadas a circulación vehicular.

3.1.5. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

CUADRO No 6. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE AEROBIOS MESÓFILOS TOTALES, COLIFORMES TOTALES, COLIFORMES FECALES, SALMONELLA, MOHOS Y LEVADURAS EN MANZANILLA, MATICO Y MARCO COMO MATERIA PRIMA. REALIZADO EN EL DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL LABORATORIO NEO.-FÁRMACO DEL ECUADOR. AMBATO. ABRIL DEL 2009

MICROORGANISMOS	MANZANILLA	MATICO	MARCO	LÍMITES MÁX ACEPTADOS
AEROBIOS MESÓFILOS TOTALES	30	35	38	10 ⁴
COLIFORMES TOTALES	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Menor de 10 a 100.
COLIFORMES FECALES	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
SALMONELLA	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
MOHOS Y LEVADURAS	Ausencia	20.0	Ausencia	< 100

Parámetros estudiados en este cuadro nos indican:

- Aerobios mesófilos totales: Parámetro general de higiene.
- Coliformes totales y fecales: Contaminación fecal.
- *Salmonella*: Contaminación de alto riesgo.
- Mohos y levaduras: Micotoxigenicidad potencial.

Los valores ilustrados en el cuadro N° 6, nos demuestra que las plantas secas de manzanilla, matico y marco están aceptadas dentro de los límites establecidos para ser usadas en la elaboración de fitofármacos según lo que indica una adecuado proceso de postcosecha.

3.2. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD DEL EXTRACTO FLUIDO

3.2.1 DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA

CUADRO No 7. RESULTADOS DE LA DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA DEL EXTRACTO FLUIDO DE MANZANILLA, MATICO Y MARCO. REALIZADO EN EL DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL LABORATORIO NEO.- FÁRMACO DEL ECUADOR. AMBATO. MAYO DEL 2009.

DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA	MANZANILLA	MATICO	MARCO
COLOR	Verde-Oscuro	Verde-Amarillento	Verde claro
OLOR	Floral Dulzón	Herbal un poco picante	Herbal amargo
TURBIDEZ	No	No	No
ASPECTO	Liq. Verde - Amarillento	Liq. Verde -claro	Liq. Verde-Oscuro

Se debe indicar que los parámetros organolépticos de calidad del extracto fluido no tienen estándares de referencia con los cuales se los puede comparar, ya que estos extractos tienen sus propios valores y características dependiendo de cada especie analizada, de las partes de la planta.

3.2.2 PARAMETROS FÍSICOS

CUADRO N o 8. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE CALIDAD DEL EXTRACTO FLUIDO DE MANZANILLA, MATICO Y MARCO REALIZADO EN EL DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL LABORATORIO NEO.- FÁRMACO DEL ECUADOR. AMBATO. MAYO DEL 2009.

DETERMINACIONES	EXTRACTO MATICO	EXTRACTO MANZANILLA	EXTRACTO MARCO
pH	6.386	5.833	6.326
ÍNDICE DE REFRACCIÓN	1.367	1.366	1.370
DENSIDAD RELATIVA	0.827	0.833	0.833
CONTENIDO ETANÓLICO	25.09	25.09	25.09
SOLIDOS TOTALES (Limite Min.6%)	8.520	6.741	6.025

En el cuadro No 12 se observa los valores que arrojaron el estudio de los extractos fluidos de manzanilla, matico y marco de estos valores están acordes a las especificaciones de la metodologías OMS, pero cabe recordar que son valores para extractos en general y no específicos para cada planta; el contenido etanólico esta en relación a la densidad, valor que se determinó según bibliografía. (22)

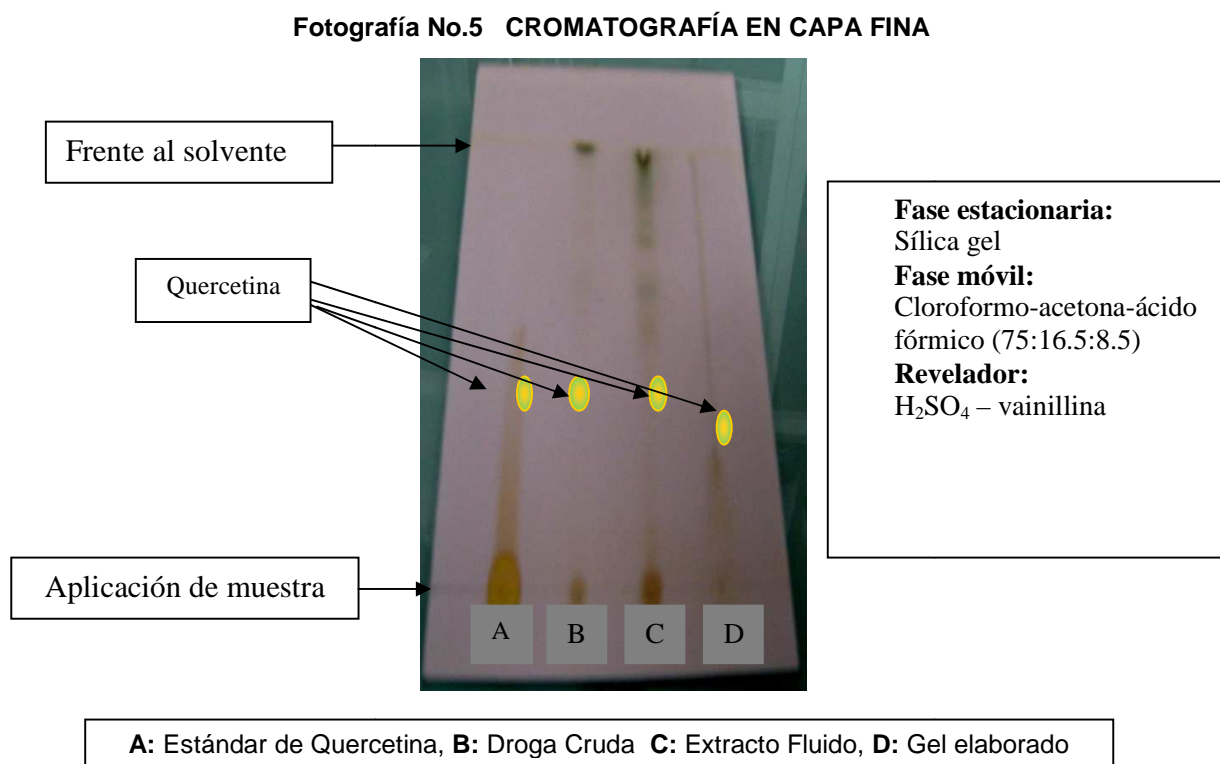
La determinación de sólidos totales tiene como límite Min 6% en nuestro caso tuvimos: para matico 8.417% , para manzanilla 6.741 % y para marco 6.025 %, valores aceptados ya que están dentro del límite establecido.

3.2.3 DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES POR CROMATOGRAFÍA

Se utilizó dos tipos de solventes para la fase móvil, y la cromatografía se realizó en placas de sílica gel y además de óxido de aluminio por separado.

Sistema de solventes --- Cloroformo-acetona-ácido fórmico (75:16.5:8.5)

Con este solvente se pudo diferenciar los componentes de la muestra analizada, gracias a que permite una mejor separación y que se puede apreciar mediante la aparición de manchas más claras para el cálculo del Rf para la identificar los compuestos.



Como se puede observar en la cromatografía No 5 y cuadro No 9 la quercetina esta presente en la droga cruda, extracto fluido, gel con un Rf de 0.93. Concordando con los Rf de las cromatografías realizadas en las plantas solas en donde se evidenciaron su presencia en manzanilla, en matico y en el marco. Lo que se confirma en Alonso (2003) la presencia de quercetina en manzanilla y en matico, mientras que en el marco no se pudo evidenciar claramente.

CUADRO No 9. DETERMINACIÓN DE R_f DEL EXTRACTO FLUIDO DE MANZANILLA, MATICO y MARCO EN MEZCLA. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. LABORATORIOS FARMACÉUTICO NEO.- FÁRMACO. AMBATO. MAYO DEL 2009.

ESTÁNDAR			
A	R_f = 6.7/7.2 = 0.93	Quercetina	Color amarillo verdoso

	CÁLCULOS R_f	COMPUESTO IDENTIFICADO	COLOR
MUESTRA DE DROGA CRUDA			
B	R_f = 6.5/7.2 = 0.91	quercetina	Amarillo verdoso
MUESTRA EXTRACTO FLUIDO			
C	R_f = 6.8/7.2 = 0.94	quercetina	Amarillo verdoso
MUESTRA DE GEL			
D	R_f = 6.5/7.2 = 0.90	quercetina	Amarillo verdoso

Los resultados expresados en el Cuadro No. 9, nos indican los cálculos respectivos de los R_f en cromatografía en capa fina del compuesto respectivo que se encuentra en la muestras de droga cruda, extracto fluido y gel de la mezcla de manzanilla, mático y marco. Se puede observar que la quercetina está presente en los análisis.

3.2.4. CONCENTRACIÓN DE FLAVONOIDES EN LOS EXTRACTOS DE MANZANILLA, MÁTICO Y MARCO

CUADRO No 10. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE FLAVONOIDES (% Quercetina) EN EL EXTRACTO FLUIDO Y GEL DE MANZANILLA, MÁTICO Y MARCO). A UNA λ 270 – 327 nm. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. LABORATORIOS FARMACÉUTICO NEO-FÁRMACO. AMBATO. MAYO DEL 2009.

PARÁMETRO (%)	DROGA CRUDA	GEL ANTIMICÓTICO
Flavonoides totales (% Quercetina)	18.82 %	17.87 %

Los resultados expresados en el cuadro No 10 nos indica que hay una mínima diferencia de concentración de flavonoides (% Quercetina) entre el extracto fluido lo cual garantiza su acción antimicótica.

3.2.5 REACCIONES DE CARACTERIZACIÓN, TAMIZAJE FITOQUÍMICO.

El tamizaje fitoquímico constituye uno de los análisis que nos ayuda a determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en la planta.

CUADRO No 11. RESULTADOS DEL TAMIZAJE FITOQUÍMICO EN EXTRACTO FLUIDO, DE MANZANILLA, MATICO Y MARCO. REALIZADO EN EL DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL LABORATORIO NEO-FÁRMACO DEL ECUADOR. AMBATO. MAYO DEL 2009.

ENSAYO/METABOLITO		TIPO DE EXTRACTO (EXTRACTO FLUIDO)		
		MATICO	MANZANILLA	MARCO
Alcaloides	Dragendorff	(+++)	(++)	(-)
	Mayer	(+++)	(++)	(++)
	Wagner	(+++)	(++)	(++)
Cardiotónicos	Baljet	(+)	(+++)	(+)
Triterpenos y/o esteroides	Liebermann	(+++)	(+++)	(+++)
	Burchard			
Antraquinonas	Borntrager	(+++)	(+++)	(-)
Taninos	Cloruro férrico	(+)	(+)	(+)
	Gelatina	(+)	(+)	(+)
Flavonoides	Cloruro férrico	(+++)	(+++)	(++)
	Shinoda	(+++)	(+++)	(++)
Azúcares reductores	Fehling	(+)	(++)	(+)
Saponinas	Espuma	(+++)	(+++)	(+++)
Principios amargos		(++)	(+)	(+++)
Resinas		(+++)	(+)	(+++)

Interpretación de la Tabla:

(-)	Negativo
(+)	Baja evidencia.
(++)	Evidencia.
(+++)	Alta evidencia.

De acuerdo a los resultados expresados en el cuadro No 11 se determinó la presencia de los siguientes metabolitos secundarios encontrándose en:

Manzanilla: Flavonoides, Cardiotónicos, Triterpenos, Esteroides, Antraquinonas, Azúcares, Saponinas.

Matico: Flavonoides, Alcaloides, Triterpenos, Antraquinonas, Saponinas, Resinas.

Marco: Triterpenos Saponinas, Principios amargos, Resinas, Flavonoides.

Al comparar los resultados de manzanilla y matico con referencias bibliográficas (Alonso 2003) y (Análisis de la Universidad Central no publicado) estas si concuerdan al haber sido analizadas, mientras que el marco no tuvo referencia bibliográfica para ser comparada.

CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXCIPIENTES

El control calidad de los excipientes que son utilizadas para formular formas farmacéuticas es uno de todos los eslabones del sistema de Aseguramiento de Calidad en la Industria Farmacéutica. El laboratorio de Control de Calidad, mediante técnicas analíticas validadas, debe certificar la calidad de todos los fármacos y excipientes luego que éstos llegan a la bodega de materias primas. De esta manera, el laboratorio de Control de Calidad podrá liberar una partida de una sustancia determinada, la cual entonces y sólo entonces puede ser utilizada en los diferentes procesos de producción (4).

3.2.6.1 Carbopol 940 NF

CUADRO No. 12. CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXCIPIENTES PARA EL GEL ANTIMICÓTICO DE MANZANILLA, MATICO Y MARCO. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO JUNIO DEL 2009.

Tipo de análisis	Especificación	Resultado
Descripción	Polvo blanco fino, libre de partículas extrañas	Cumple
Identificación	Prueba A y B	Cumple
Viscosidad	30 500 – 39 400 cp.	32 000
Límites del benceno	Máximo 0.05 %	Certificado de análisis
Pérdida por secado	Máximo 2.0 %	1.2 %
Metales pesados	Máximo 0.002 %	0.0015 %
Ensayo: Grupo carboxílico	56.68% en base seca	60.8 %

Los resultados expresados en el cuadro N° 12, nos indican que el carbopol 940 cumple con el control de calidad realizado con los diferentes tipos de análisis y especificaciones de acuerdo a la USP XXVIII.

3.2.6.2 Metilparabeno base NF

CUADRO No. 13. CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXCIPIENTES PARA EL GEL. ANTIMICÓTICO DE MANZANILLA, MATICO Y MARCO DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JUNIO DEL 2009.

Tipo de análisis	Especificación	Resultado
Descripción	Cristales incoloros o polvo cristalino blanco, libre de partículas extrañas	Cumple
Solubilidad	Soluble en agua, alcohol, éter	Cumple
Identificación	Prueba A	Cumple
Acidez	No más de 0.001 de NaOH mL es requerido	Cumple
Residuo de Ignición	No más 0.05%	Certificado de análisis
Punto de fusión	125°C- 128°C	127°C
Ensayo	99.0 – 100.5 %	99.09 %
Perdida por secado	No más del 5 %	4 %

Los resultados del cuadro N° 13, nos indica que el metilparabeno sódico cumple con el control de calidad según la metodología de la USP XXVIII.

3.2.6.3 Propilparabeno sódico NF

CUADRO No. 14. CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXCIPIENTES PARA EL GEL ANTIMICÓTICO DE MANZANILLA, MATICO Y MARCO DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JUNIO DEL 2009.

Tipo de análisis	Especificación	Resultado
Descripción	Cristales incoloros o polvo blanco, libre de partículas extrañas.	Cumple
Solubilidad	Soluble en agua y alcohol	Cumple
Identificación	Espectro IR de las muestras es comparable al del estándar	Cumple
pH	Entre 9.6 – 10. 5	9.8
Punto de fusión	95°C – 98°C	95°C
Acidez	Pasa la prueba	Cumple
Pérdida por secado	Máximo 0.5 %	0.45 %
Residuo de ignición	No más de 0.005 %	Certificado de análisis
Ensayo	99.0 – 10.5 %	99.04 %
Cloruros	Pasa la prueba	Cumple
Sulfatos	Pasa la prueba	Cumple

Los resultados expresados en el cuadro N°14, nos indica que el propilparabeno sódico cumple con el control de calidad según la metodología de la Farmacopea Americana XXVIII.

3.2.6.4 Trietanolamina (TEA) NF

CUADRO NO. 15. CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXCIPIENTES PARA EL GEL ANTIMICÓTICO DE MANZANILLA, MATICO DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JUNIO DEL 2009.

Tipo de análisis	Especificación	Resultado
Descripción	Líquido claro. incoloro, viscoso, libre de partículas extrañas	Cumple
Identificación	Prueba A y B	Cumple
Gravedad específica a 20°C	1.120 – 1.128	1.125
Índice de refracción	1.481 – 1.486	1.483
Agua	No más del 0.5 %	0.02 %
Residuo de ignición	No más del 0.05 %	0.01 %
ensayo	No menos de 99.0 – 107.4 %	105.2 %

Los resultados expresados en el cuadro N° 15, nos indica que la trietanolamina cumple con el control de calidad según la metodología la USP XXVIII.

3.2.6.5 Alcohol etílico (alcohol potable)

CUADRO No. 16. CONTROL DE CALIDAD DEL ALCOHOL POTABLE UTILIZADO PARA LA OBTENCIÓN DEL EXTRACTO FLUIDO PARA EL GEL ANTIMICÓTICO DE MANZANILLA, MATICO DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. LABORATORIOS FARMACÉUTICO NEO- FÁRMACO. AMBATO. JUNIO DEL 2009.

Tipo de análisis	Especificación	Resultado
Descripción	Líquido incoloro, claro transparente, móvil y volátil, hierve alrededor de 78°C, olor característico sabor quemante, Rápidamente inflamable. Arde con una llama azul.	Cumple
Solubilidad	Miscible con agua, éter y cloroformo	Cumple
Identificación	Prueba A y B	Cumple
Acidez o Alcalinidad	Pasa la prueba	Cumple
Densidad específica	a 20 °C de 0.819 a 0.8139	0,8092
Grado alcohólico	Alcoholímetro de Gay Lussac 94.9 y 96.0 %	96
Límites de residuo no volátil	El peso del residuo no excede en 1 mg	0.08 mg
Sustancias insolubles en agua	Pasa la prueba	Cumple
Constituyentes en aceite	Pasa la prueba	Cumple
Metanol	Pasa la prueba	Cumple

Los resultados expresados en el cuadro N°16 nos indica que el alcohol etílico (alcohol potable) cumple con el control de calidad según la USP XXVIII.

Todos los parámetros de control de calidad con respecto a los excipientes corresponden una batería de análisis, preestablecidos en su correspondiente boletín de análisis.

3.2.6 CONTROL DE CALIDAD DEL GEL ANTIMICÓTICO DE MANZANILLA, MATICO Y MARCO.

El control de calidad de producto terminado tiene como propósito determinar si una forma farmacéutica posee los atributos de calidad previamente establecidos. Estos atributos buscan poder conseguir en último término que el medicamento cumpla el objetivo para el cual fue diseñado de manera segura.

3.2.7.1 PROPIEDADES FÍSICAS

CUADRO No. 17 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOS DEL GEL ANTIMICÓTICO DE MANZANILLA, MATICO Y MARCO. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JUNIO DEL 2009.

RESULTADOS		
Parámetros	Gel Sin Antioxidante	Gel Con Antioxidante
Aspecto	Gel homogéneo untuoso al tacto , libre de grumos	Gel homogéneo untuoso al tacto , libre de grumos
Color	Verde	Verde- Amarillento
Olor	Característico de sus ingredientes	Característico de sus ingredientes
Presencia de grumos	Negativo	Negativo
Untuosidad al tacto	Penetrante	Penetrante
Peso	30 g	30 g

Los resultados expresados en la cuadro No.17, nos indican los caracteres organolépticos los cuales presentan un olor agradable debido a la mezcla de aromas de los excipientes y también de la materia prima utilizada. No existe la presencia de grumos tiene una buena untuosidad al tacto.

3.2.7.2 Determinación del pH

CUADRO No.18. DETERMINACIÓN DEL pH DEL GEL ANTIMICOTICO DE MANZANILLA, MATICO Y MARCO. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JUNIO DEL 2009.

pH		LÍMITES
GEL SIN ANTIOXIDANTE	6.44	4 – 7.
GEL CON ANTIOXIDANTE (EDTA)	6.34	

Los resultados expresados en el cuadro No.18, nos indica que el pH del gel sin antioxidante y el gel con antioxidante esta en los límites permitidos según la USP 28.

3.2.7.3 Determinación de la Extensibilidad

CUADRO No. 19. DETERMINACIÓN DE EXTENSIBILIDAD DEL GEL ANTIMICÓTICO DE MANZANILLA, MATICO Y MARCO. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JUNIO 2009.

Extensibilidad (mm)		LÍMITES
GEL SIN ANTIOXIDANTE	4.26	Máximo 4.5mm .
GEL CON ANTIOXIDANTE (EDTA)	4.30	

Los resultados expresados en el cuadro No.19, nos indica que la extensibilidad es de un promedio de 4.26mm para el gel sin antioxidante, y para el gel con antioxidante un promedio de 4.30 mm lo cual indica que están dentro de los límites correspondientes siendo este como máximo 4.5mm.

3.2.7.4 Determinación de la Viscosidad

CUADRO No.20 DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD DEL GEL ANTIMICÓTICO DE MANZANILLA, MATICO Y MARCO. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JUNIO 2009.

VISCOSIDAD (Centipoises)	
GEL SIN ANTIOXIDANTE	54.65 cp.
GEL CON ANTIOXIDANTE (EDTA)	54.64 cp.

Los resultados expresados en el cuadro N° 20, nos indica que el valor de la viscosidad del gel sin antioxidante tiene promedio es de 54.65 centipoises y el gel con antioxidante con un promedio de 54.64 lo cual concuerda con los valores de extensibilidad.

3.2.7.5 Análisis microbiológico

CUADRO No.21. DETERMINACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL GEL ANTIMICOTICO DE MANZANILLA, MATICO Y MARCO. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JUNIO 2009.

ENSAYO	Gel Sin Antioxidante	Gel Con Antioxidante	VALOR ACEPTABLE (USP 25)
Recuento de microorganismos aerobios	< 10 UFC	< 10 UFC	< 10 UFC
Hongos	< 10 UFC	< 10 UFC	

UFC: Unidades Formadoras de Colonias.

Los resultados expresados en el cuadro No.21, nos indica que se utilizaron los métodos de control microbiológico establecidos por la USP XXVIII, para el recuento total de mesófilos aeróbicos, levaduras y hongos, sin observarse ningún tipo de crecimiento microbiológico en el producto terminado.

3.2.7 ACTIVIDAD ANTIMICOTICO DEL EXTRACTO FLUIDO Y GEL AL 25% DE MANZANILLA, MATICO Y MARCO FRENTE *Candida albicans* ATCC 10231.



Fotografía No 4 Actividad Antimicótica

El extracto fluido de manzanilla, matico y marco al 25%, gel con extracto fluido sin antioxidante y gel con extracto fluido con antioxidante mostraron actividad antimicótica frente a *Candida albicans* ATCC 10231 al no observar crecimiento en las cajas pretri durante el tiempo de incubación, presentando así una respuesta positiva al ensayo de Mitscher.

3.2.8 ESTUDIO DE ESTABILIDAD ACELERADA

3.2.8.1 CONTROLES ORGANOLÉPTICOS

CUADRO No.22 CONTROL ORGANOLÉPTICO DE LAS FORMULACIONES DURANTE LOS TRES MESES DE ESTUDIO DE ESTABILIDAD. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JULIO 2009.

		COLOR	OLOR	ASPECTO
E1	F1	Verde	Característico de la planta	Gel verde de buena consistencia
	F2	Verde - amarillento	Característico de la planta	Gel verde de buena consistencia
E2	F1	Verde	Característico de la planta	Gel verde de buena consistencia
	F2	Verde - amarillento	Característico de la planta	Gel verde de buena consistencia

Las características organolépticas del producto se mantienen constantes durante todo el período de estudio de estabilidad, lo cual nos demuestra que no se producen degradaciones en las formulaciones.

3.2.8.2 CONTROLES FISICOS

– Control de pH

CUADRO No. 23. RESULTADOS DE LOS PROMEDIOS DE pH DURANTE LOS TRES MESES DE ESTUDIO DE ESTABILIDAD. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JULIO 2009

		CONDICIÓN	TIEMPO		
			1mes	2mes	3mes
F1	E1	TEMPERATURA AMBIENTE	6,376	6,340	6,098
		30°C /70%HR	6,335	6,417	6,085
		40°C /70%HR	6,293	6,342	6,080
	E2	TEMPERATURA AMBIENTE	6,083	6,102	6,099
		30°C /70%HR	6,078	6,064	6,068
		40°C /70%HR	6,096	6,089	6,066
F2	E1	TEMPERATURA AMBIENTE	6,334	6,099	6,005
		30°C /70%HR	6,432	6,073	5,988
		40°C /70%HR	5,939	6,031	5,957
	E2	TEMPERATURA AMBIENTE	6,010	6,004	6,001
		30°C /70%HR	5,985	6,003	5,978
		40°C /70%HR	5,912	5,987	5,929

CUADRO No. 24. TEST DE TUKEY AL 95% DE pH EN GEL SIN ANTIOXIDANTE Y CON ANTIOXIDANTE DURANTE LOS TRES MESES DE ESTUDIO DE ESTABILIDAD. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JULIO 2009.

VARIABLES	TRATAMIENTOS		X	Prob.	CV (%)
	CA	SA			
pH en gel sometido a 20 °C	6,32 b	6,35 a	6,33	0,0004	0,37
pH en gel sometido a 30 °C	6,28 b	6,33 a	6,31	0,0001	0,36
pH en gel sometido a 40 °C	6,26 b	6,33 a	6,28	0,0001	0,38

En el cuadro No. 24, estadísticamente los análisis indicaron que existen diferencias significativas en los geles: Con Antioxidante (CA) y Sin antioxidante (SA), sometidos a las temperaturas de 20, 30,40 °C. Sin embargo el valor del pH sigue encontrándose dentro de los límites establecidos que son de 5 -7 por lo tanto los dos geles son adecuados para el uso tópico ya que estos valores son similares al pH de la piel.

CUADRO No. 25. TEST DE TUKEY AL 95% DE pH PARA LOS GELES ENVASADOS EN TUBOS CALAPSIBLES DE PLÁSTICO Y ALUMINIO DURANTE LOS TRES MESES DE ESTUDIO DE ESTABILIDAD. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JULIO 2009.

VARIABLES	ENVASE		X	Prob.	CV (%)
	P	A			
pH en gel sometido a 20 °C	6,36 a	6,30 b	6,33	0,0001	0,37
pH en gel sometido a 30 °C	6,36 a	6,26 b	6,31	0,0001	0,36
pH en gel sometido a 40 °C	6,34 a	6,24 b	6,28	0,0001	0,38

En el cuadro No 25 al determinar el pH se encontraron diferencias estadísticas significativas en los envases: plástico (P) y aluminio (A). Dando como resultado que el envase de plástico es el más adecuado para el llenado de los geles debido a que existe menor variación de los resultados de pH evaluado a las diferentes temperaturas a los tres meses de estudio.

CUADRO No. 26. TEST DE TUKEY AL 95% DE pH PARA LOS GELES DURANTE LOS TRES MESES DE ESTUDIO DE ESTABILIDAD TOMANDO ENCUESTA SU VALOR INICIAL. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JULIO 2009.

VARIABLES	TIEMPO DE EVALUACIÓN (Días)				X	Prob.	CV (%)
	0	30	60	90			
pH en gel sometido a 20 °C	6,41 a	6,32 b	6,31 bc	6,29 c	6,33	0,0001	0,37
pH en gel sometido a 30 °C	6,41 a	6,27 b	6,28 b	6,31 bc	6,31	0,0001	0,36
pH en gel sometido a 40 °C	6,41 a	6,24 b	6,25 b	6,24 b	6,28	0,0001	0,38

En el cuadro No 26 los geles indican que el pH en los días analizados de (0, 30, 60,90 días) a la temperatura de 20°C los valores van disminuyendo; a las temperaturas de 30 y 40 °C, ocurrió un comportamiento similar. Pero manteniéndose dentro de los límites. Estadísticamente los valores son diferentes.

CUADRO No. 27 RESULTADOS DE LOS PROMEDIOS DE EXTENSIBILIDAD DURANTE LOS TRES MESES DE ESTUDIO DE ESTABILIDAD. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JULIO 2009.

		CONDICIÓN	TIEMPO		
			1mes	2mes	3mes
F1	E1	TEMPERATURA AMBIENTE	4,60	4,7	4,6
		30°C /70%HR	4,4	4,6	4,7
		40°C /70%HR	4,7	4,8	4,7
	E2	TEMPERATURA AMBIENTE	4,8	4,8	4,7
		30°C /70%HR	4,7	4,6	4,6
		40°C /70%HR	4,6	4,4	4,8
F2	E1	TEMPERATURA AMBIENTE	4,8	4,6	4,7
		30°C /70%HR	4,6	4,7	4,6
		40°C /70%HR	4,4	4,7	4,4
	E2	TEMPERATURA AMBIENTE	4,6	4,7	4,3
		30°C /70%HR	4,7	4,6	4,1

CUADRO No. 28. TEST DE TUKEY AL 95% DE EXTENSIBILIDAD EN GEL SIN ANTIOXIDANTE Y CON ANTIOXIDANTE DURANTE LOS TRES MESES DE ESTUDIO DE ESTABILIDAD. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JULIO 2009.

VARIABLES	TRATAMIENTOS		X	Prob.	CV (%)
	CA	SA			
Extensibilidad en gel sometido a 20 °C	4,41 a	4,35 b	4,38	0,0001	0,22
Extensibilidad en gel sometido a 30 °C	4,41 a	4,34 b	4,37	0,0001	0,24
Extensibilidad en gel sometido a 40 °C	4,37 a	4,31 b	4,34	0,0001	0,19

En el cuadro No. 28, estadísticamente los análisis indicaron que existen diferencias significativas en los geles: Con Antioxidante (CA) y Sin antioxidante (SA), sometidos a las temperaturas de 20, 30,40 °C. Sin embargo el valor de la extensibilidad sigue encontrándose dentro de los límites establecidos que es hasta 5 mm por lo tanto los dos geles presentan buena extensibilidad parámetro importante dentro de la calidad del producto.

CUADRO No. 29. TEST DE TUKEY AL 95% DE EXTENSIBILIDAD PARA LOS GELES ENVASADOS EN TUBOS CALAPSIBLES DE PLÁSTICO Y ALUMINIO DURANTE LOS TRES MESES DE ESTUDIO DE ESTABILIDAD. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JULIO 2009.

VARIABLE	ENVASE		X	Prob.	CV (%)
	P	A			
Extensibilidad en gel sometido a 20 °C	4,36 a	4,39 b	4,38	0,0001	0,22
Extensibilidad en gel sometido a 30 °C	4,36 a	4,38 b	4,37	0,0001	0,24
Extensibilidad en gel sometido a 40 °C	4,35 a	4,32 b	4,34	0,0001	0,19

Al determinar la extensibilidad en el cuadro No 29 se encontraron diferencias estadísticas significativas en los envases: plástico (P) y aluminio (A). El envase de plástico es el más probable para el envasado de los geles debido a que existe menor variación de los resultados de extensibilidad evaluado a las diferentes temperaturas a los tres meses de estudio.

CUADRO No. 30. TEST DE TUKEY AL 95% DE EXTENSIBILIDAD PARA LOS GELES DURANTE LOS TRES MESES DE ESTUDIO DE ESTABILIDAD TOMANDO ENCUESTA SU VALOR INICIAL. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JULIO 2009.

VARIABLES	TIEMPO DE EVALUACIÓN				X	Prob.	CV (%)
	(Días)						
	0	30	60	90			
Extensibilidad en gel sometido a 20 °C	4,46 a	4,39 b	4,35 c	4,31 d	4,38	0,0001	0,22
Extensibilidad en gel sometido a 30 °C	4,46 a	4,39 b	3,35 c	4,31 d	4,38	0,0001	0,24
Extensibilidad en gel sometido a 40 °C	4,46 a	4,35 b	4,30 c	4,26 d	4,34	0,0001	0,19

En el cuadro No 30 los geles indican que a medida que van transcurriendo los días a la temperatura de 20°C los valores de la extensibilidad van decreciendo; igual comportamiento sucede en las temperaturas de 30 y 40 °C, pero siguen manteniéndose dentro de los límites. Estadísticamente los valores difieren entre si.

CUADRO No. 31. RESULTADOS DE LOS PROMEDIOS DE VISCOSIDAD DURANTE LOS TRES MESES DE ESTUDIO DE ESTABILIDAD. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JULIO 2009.

		CONDICIÓN	TIEMPO		
			1mes	2mes	3mes
F1	E1	TEMPERATURA AMBIENTE	54,6	54,7	54,6
		30°C /70%HR	54,4	54,6	54,7
		40°C /70%HR	54,7	54,8	54,7
	E2	TEMPERATURA AMBIENTE	54,8	54,8	54,7
		30°C /70%HR	54,7	54,6	54,6
		40°C /70%HR	54,6	54,4	54,8
F2	E1	TEMPERATURA AMBIENTE	54,8	54,6	54,7
		30°C /70%HR	54,6	54,7	54,6
		40°C /70%HR	54,4	54,7	54,4
	E2	TEMPERATURA AMBIENTE	54,6	54,7	54,3
		30°C /70%HR	54,7	54,6	54,1
		40°C /70%HR	53,8	54,1	54,0

CUADRO No. 32. TEST DE TUKEY AL 95% DE VISCOSIDAD EN GEL SIN ANTIOXIDANTE Y CON ANTIOXIDANTE DURANTE LOS TRES MESES DE ESTUDIO DE ESTABILIDAD. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JULIO 2009.

VARIABLES	TRATAMIENTOS		X	Prob.	CV (%)
	CA	SA			
Viscosidad en gel sometido a 20 °C	54,60 a	54,58 b	54,59	0,3323	0,19
Viscosidad en gel sometido a 30 °C	54,57 a	54,55 b	54,57	0,4036	0,17
Viscosidad en gel sometido a 40 °C	54,52 a	54,49 b	54,51	0,1946	0,15

Al determinar la viscosidad en el cuadro No. 32, estadísticamente los valores indicaron que existen diferencias significativas en los geles: CA y SA, sometidos a las temperaturas de 20, 30,40 °C. Sin embargo el valor de la viscosidad sigue encontrándose dentro de los límites establecidos parámetro importante para la calidad del producto.

CUADRO No.33. TEST DE TUKEY AL 95% DE VISCOSIDAD PARA LOS GELES ENVASADOS EN TUBOS CALAPSIBLES DE PLÁSTICO Y ALUMINIO DURANTE LOS TRES MESES DE ESTUDIO DE ESTABILIDAD. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JULIO 2009.

VARIABLES	ENVASE		X	Prob.	CV (%)
	P	A			
Viscosidad en gel sometido a 20 °C	54,55 a	54,63 b	54,59	0,0191	0,19
Viscosidad en gel sometido a 30 °C	54,55 a	54,57 b	54,57	0,6018	0,17
Viscosidad en gel sometido a 40 °C	54,53 b	54,47 a	54,51	0,0147	0,15

En el cuadro No 33 se encontraron que los datos difieren estadísticamente entre si en los envases de plástico (P) y aluminio (A). El envase de plástico presenta menor variación de los resultados de viscosidad evaluado a las diferentes temperaturas en los tres meses de estudio, siendo el más indicado para su utilización del envasado.

CUADRO No. 34. TEST DE TUKEY AL 95% DE VISCOSIDAD EN GEL SIN ANTIOXIDANTE Y CON ANTIOXIDANTE DURANTE LOS TRES MESES DE ESTUDIO DE ESTABILIDAD. . DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JULIO 2009.

VARIABLES	TIEMPO DE EVALUACION (Días)				X	Prob.	CV (%)
	0	30	60	90			
Viscosidad en gel sometido a 20 °C	54,65 a	54,62 a	54,61 ab	54,49 c	54,59	0,0042	0,19
Viscosidad en gel sometido a 30 °C	54,65 a	54,60 a	54,55 ab	54,46 b	54,57	0,0001	0,17
Viscosidad en gel sometido a 40 °C	54,65 a	54,49 b	54,47 b	54,41 bc	54,51	0,0001	0,15

En el cuadro No 34 los geles indican que la viscosidad en los días analizados a la temperatura de 20°C los valores van disminuyendo; igual comportamiento ocurre a 30 y 40 °C. Presentando diferencias estadísticas en los valores analizados.

PARÁMETROS QUÍMICOS.

- **VALORACIÓN DE QUERCETINA**

CUADRO No. 35. RESULTADOS DE LOS PROMEDIOS DEL PORCENTAJE DE QUERCETINA DURANTE LOS TRES MESES DE ESTUDIO DE ESTABILIDAD. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JULIO 2009.

		CONDICIÓN	PROMEDIO		
			1mes	2mes	3mes
F1	E1	TEMPERATURA AMBIENTE	17,80	17,48	17,46
		30°C /70%HR	17,46	17,42	17,02
		40°C /70%HR	17,02	17,56	17,41
	E2	TEMPERATURA AMBIENTE	17,58	17,55	17,49
		30°C /70%HR	17,42	17,46	17,68
		40°C /70%HR	17,56	17,02	17,75
F2	E1	TEMPERATURA AMBIENTE	17,75	17,71	17,71
		30°C /70%HR	17,67	17,59	17,46
		40°C /70%HR	17,68	17,68	17,02
	E2	TEMPERATURA AMBIENTE	17,78	17,75	17,71
		30°C /70%HR	17,71	17,46	17,34
		40°C /70%HR	17,59	17,56	17,66

CUADRO No. 36. TEST DE TUKEY AL 95% DEL PORCENTAJE DE QUERCETINA EN GEL SIN ANTIOXIDANTE Y CON ANTIOXIDANTE DURANTE LOS TRES MESES DE ESTUDIO DE ESTABILIDAD. . DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JULIO 2009.

VARIABLES	TRATAMIENTOS		X	Prob.	CV (%)
	CA	SA			
% Quercetina en gel sometido a 20 °C	17,73 a	17,75 a	17,72	0,1041	0,09
% Quercetina en gel sometido a 30 °C	17,64 a	17,57 b	17,58	0,0001	0,08
% Quercetina en gel sometido a 40 °C	17,63 a	17,53 b	17,58	0,0001	0,05

En el cuadro No. 36, estadísticamente los valores indicaron que a 20°C el gel con antioxidante y sin antioxidante son iguales; en cambio los valores difieren estadísticamente a la temperatura de 30,40 °C. Considerando que el gel con antioxidante presenta menor % de degradación de quercetina.

CUADRO No. 37 TEST DE TUKEY AL 95% DEL PORCENTAJE DE QUERCETINA PARA LOS GELES ENVASADOS EN TUBOS CALAPSIBLES DE PLÁSTICO Y ALUMINIO DURANTE LOS TRES MESES DE ESTUDIO DE ESTABILIDAD. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JULIO 2009.

VARIABLES	ENVASE		X	Prob.	CV (%)
	P	A			
% Quercetina en gel sometido a 20 °C	17,73 a	17,72 a	17,72	0,0737	0,09
% Quercetina en gel sometido a 30 °C	17,64 a	17,54 b	17,58	0,0001	0,08
% Quercetina en gel sometido a 40 °C	17,63 a	17,53 b	17,58	0,0001	0,05

Al analizar el porcentaje de quercetina en el cuadro No. 37, estadísticamente nos indica que los valores son iguales a una temperatura de 20°C, tanto en el envase plástico como el de aluminio; en cambio para las temperaturas de 30 y 40 °C existen diferencias significativas en los envases de los geles. Determinándose que en el envase de plástico existe mínimas cantidades de degradación del % de quercetina.

CUADRO No. 38. TEST DE TUKEY AL 95% DEL PORCENTAJE DE QUERCETINA EN GEL SIN ANTIOXIDANTE Y CON ANTIOXIDANTE DURANTE LOS TRES MESES DE ESTUDIO DE ESTABILIDAD. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JULIO 2009.

VARIABLES	TIEMPO DE EVALUACIÓN					X	Prob.	CV (%)
	(Días)				—			
	0	30	60	90				
% Quercetina en gel sometido a 20 °C	17,86 a	17,86 a	17,85 a	17,85 a	17,72	0,0750	0,09	
% Quercetina en gel sometido a 30 °C	17,86 a	17,57 b	17,49 c	17,43 d	17,58	0,0001	0,08	
% Quercetina en gel sometido a 40 °C	17,86 a	17,59 b	17,48 c	17,39 d	17,58	0,0001	0,05	

En el cuadro No 38 los geles indican que el % porcentaje de quercetina a una temperatura de 20°C estadísticamente son iguales a medida que transcurren los días. A los 30 y 40°C existen diferencias entre los valores dentro de los días analizados.

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Al finalizar el estudio de estabilidad, se volvió a realizar un control microbiológico, para determinar si existe contaminación microbiana en los geles elaborados.

CUADRO No. 39. RESULTADOS DE CONTROL MICROBIOLÓGICO UNA VEZ TERMINADO EL ESTUDIO DE ESTABILIDAD, ENVASE PLÁSTICO. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JULIO 2009.

	Bacterias Mesófilas Aeróbicas	Hongos	Levaduras	VALOR ACEPTABLE (USP 25)
F1	<10 U.F.C	<10 U.F.C	<10 U.F.C	< 10 UFC
F2	<10 U.F.C	<10 U.F.C	<10 U.F.C	

CUADRO No. 40. RESULTADOS DE CONTROL MICROBIOLÓGICO UNA VEZ TERMINADO EL ESTUDIO DE ESTABILIDAD, ENVASE ALUMINIO. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JULIO 2009

	Bacterias Mesófilos Aeróbicas	Hongos	Levaduras	VALOR ACEPTABLE (USP 28)
F1	<10 U.F.C	<10 U.F.C	<10 U.F.C	< 10 UFC
F2	<10 U.F.C	<10 U.F.C	<10 U.F.C	

Las dos formulaciones no presentaron ningún crecimiento de microorganismos una vez concluido el estudio de estabilidad, con lo cual las especificaciones microbiológicas de los productos no variaron con relación al tiempo y envases.

3.2.8.4 DETERMINACIONES DEL TIEMPO DE VIDA UTIL DEL GEL ANTIMICÓTICO POR APLICACIÓN DEL METODO DE POPPE.

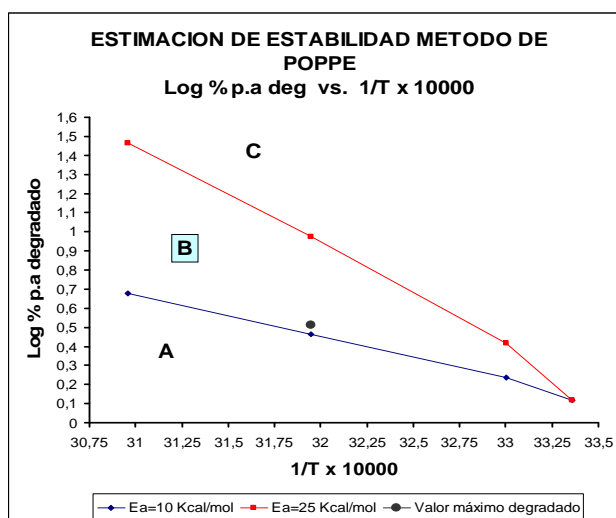
3.2.8.4.1 Estimación de tiempo de vida útil de la Fórmula No. 1

(a) Envase de plástico

Tabla No 28. Datos para gráfico Log % degradado vs. 1/T x 10000 para fórmula 1 gel sin Antioxidante, envase de plástico.

		PORCENTAJE DE FLAVONOIDES (% QUERCETINA)		
		20°C	30°C/ 70 %HR	40°C/ 70 %HR
TIEMPO (Días)	0	17,8	17,8	17,8
	30	17,8	17,8	17,6
	60	17,2	17,0	17,7
	90	16,5	15,7	14,6
Diferencia de porcentaje de principio activo		1,30	2,10	3,10
Log Diferencia de porcentaje de flavonoides (% Quercetina)		0,10	0,32	0,50

Figura No.6 Log% degradado vs.1/T x 10000 para Fórmula No. 1 envase plástico.

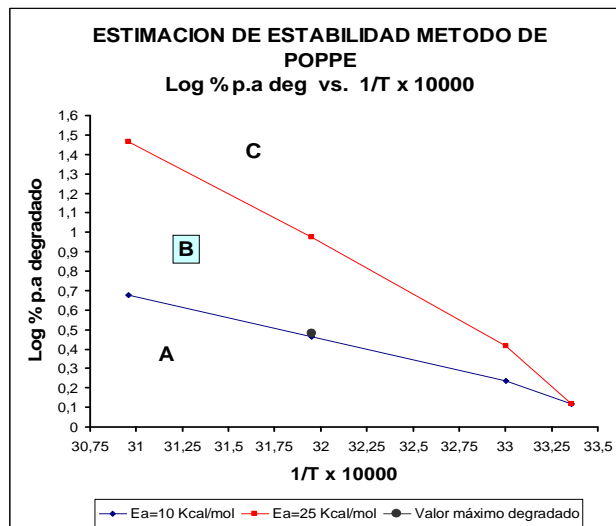


(b) Envase de aluminio

Tabla No 29 Datos para gráfico Log % degradado vs. $1/T \times 10000$ para fórmula 1 gel sin Antioxidante, envase de aluminio.

		PORCENTAJE DE FLAVONOIDES (% QUERCETINA)		
		20°C	30°C/ 70 %HR	40°C/ 70 %HR
TIEMPO (Días)	0	17,7	17,7	17,7
	30	17,4	17,5	17,4
	60	17,9	17,9	17,3
	90	15,9	15,2	14,9
Diferencia de porcentaje de principio activo		1,80	2,50	2,80
Log Diferencia de porcentaje de flavonoides (% Quercetina)		0,26	0,40	0,45

Figura No. 7 Log% degradado vs. $1/T \times 10000$ para Fórmula No. 1 envase aluminio.



En la figura No 6 y No 7 se observa que el logaritmo del máximo porcentaje degradado tanto del envase plástico como de aluminio caen dentro del Área B de las curvas, por lo cual se estima que el periodo de vida útil de la fórmula No 1 envasada en tubos de plástico y de aluminio es de dos años.

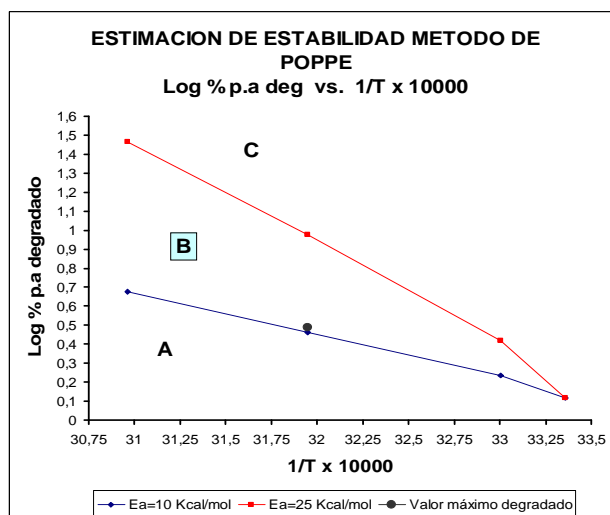
3.2.8.4.2 Estimación de tiempo de vida útil de la Fórmula No. 2

(a) Envase de plástico

Tabla No 30 Datos para gráfico Log % degradado vs. $1/T \times 10000$ para fórmula 2 gel con Antioxidante, envase de plástico.

		PORCENTAJE DE FLAVONOIDES (% QUERCETINA)		
		20°C	30°C/ 70 %HR	40°C/ 70 %HR
TIEMPO (Días)	0	17,9	17,9	17,9
	30	17,8	17,8	17,6
	60	17,3	17,0	17,7
	90	15,8	15,0	14,6
Diferencia de porcentaje de principio activo		2.10	2.70	3.10
Log Diferencia de porcentaje de flavonoides (% Quercetina)		0.32	0.44	0.49

Figura No.8 Log% degradado vs.1/T x 10000 para Fórmula No. 2 envase plástico.

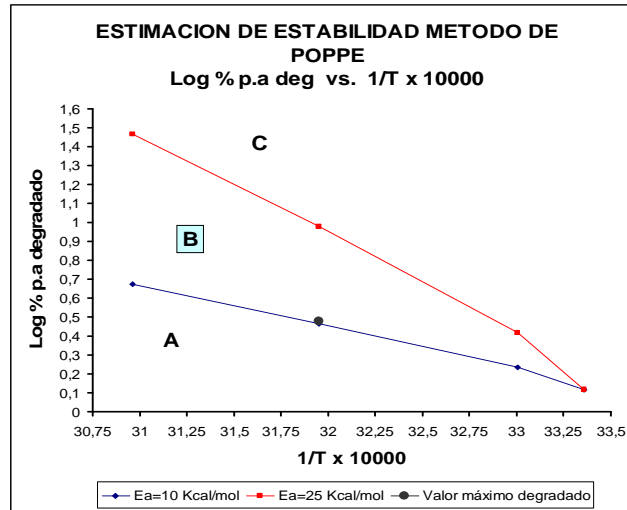


(a) Envase de Aluminio

Tabla No 31. Datos para gráfico Log % degradado vs. 1/T x 10000 para fórmula 2 gel con Antioxidante, envase de aluminio.

		PORCENTAJE DE FLAVONOIDES (% QUERCETINA)		
		20°C	30°C/ 70 %HR	40°C/ 70 %HR
TIEMPO (Días)	0	17,5	17,5	17,5
	30	17,4	17,0	17,8
	60	17,4	17,1	17,1
	90	115	14,9	14,2
Diferencia de porcentaje de principio activo		2,40	2,60	3,30
Log Diferencia de porcentaje de flavonoides (% Quercetina)		0,38	0,42	0,51

Figura No. 9 Log% degradado vs. $1/T \times 10000$ para Fórmula No. 2 envase aluminio.



A través de las gráficas obtenidas, obtenemos que el logaritmo del máximo porcentaje de quercetina degradado tanto del envase plástico como del envase de aluminio caen en el área B de las curvas, por lo cual se estima que el periodo de vida útil de la formula No. 2 es de dos años para los dos envases.

•

CAPÍTULO IV

4 CONCLUSIONES

1. Según el control microbiológico de la droga cruda de las tres plantas , se pudo determinar como la de Aerobios Mesófilos Totales, Coliformes totales, Coliformes fecales, Mohos y Levaduras se encuentran dentro de los parámetros de referencia de la AOAC y OMS, concluyendo que la materia prima tuvo un buen manejo y cuidado de contaminación durante la cosecha , poscosecha y el almacenamiento. Esto indica que tiene una buena condición higiénica y por tanto no representa un riesgo para la salud.
2. Según el tamizaje fitoquímico realizado sobre el extracto fluido de las tres plantas de manzanilla, matico y marco. se observó que las especies contiene flavonoides, triterpenos, saponinas, resinas, cardiotónicos, antraquinonas y otros compuestos en menor cantidad.
3. En la identificación de flavonoides (% Quercetina) en el gel antimicótico por cromatografía en capa fina se obtuvieron manchas iguales de los compuestos por lo que se concluye que estos compuestos están presentes tanto en la materia prima y producto terminado, y que en las diferentes operaciones unitarias que intervienen el proceso de elaboración no existió degradación observable de dichos compuestos.
4. El control de los excipientes: carbopol 940, metil parabeno sódico, propil parabeno sódico, trietanolamina (TEA), dimeticona, alcohol potable, se encuentran dentro de los parámetros establecidos por la USP XXVIII concluyendo que estos excipientes cumplen características de calidad para la elaboración de los fitofármacos.

5. Tras la utilización de los métodos de control microbiológico establecidos por la USP XXVIII, para el recuento total de mesófilos aeróbicos, levaduras y hongos, no se observa ningún tipo de crecimiento microbiológico en el producto terminado, por tanto nos indica que es apto para el uso humano.

6. Se afirma la hipótesis planteada, ya que el gel antimicótico elaborado cumplió con las especificaciones organolépticas, físicas, químicas y microbiológicas, a condiciones normales y extremas, en temperatura y humedad relativa.

7. El control de calidad de producto terminado en las fórmulas cumple con las especificaciones establecidas para el producto, por lo cual se concluye que los excipientes de la formulación son los adecuados para las formulaciones elaboradas.

8. Del estudio de estabilidad acelerada realizado, y aplicando el Método de Poppe, se concluye que el período de vida útil de las dos formulaciones del gel es de dos años, para tubos colapsibles de plástico y de aluminio.

9. Una vez concluido el estudio de estabilidad y realizado el análisis estadístico, el gel elaborado que proporciona mayor estabilidad es el que contiene antioxidante edetato disódico (EDTA), componente de la fórmula 2, al mantener esta formulación los valores más altos del porcentaje de quercetina, y una mínima reducción de pH, siendo de esta manera que menor degradación posee.

CAPITULO V

5 RECOMENDACIONES

1. El proceso de manufactura se debe realizar en un área donde no exista contacto directo de luz solar con el producto y los envases.
2. Se recomienda realizar estudios de estabilidad del gel en otro tipo de envases, los cuales pueden ser frascos color ámbar de plástico y vidrio, con el fin de asegurar la completa estabilidad del producto elaborado.
3. Se recomienda realizar estudios de estabilidad del gel con otros tipos de antioxidantes, los cuales pueden ser ácido cítrico, metabisulfito de sodio, etc. con el fin de asegurar la completa estabilidad del producto elaborado.
4. Se recomienda elaborar un estudio de estabilidad a largo plazo en los geles elaborados, ya que se obtendría datos más reales con relación a la estabilidad del producto.
5. Se recomienda la preparación de geles utilizando concentraciones menores y mayores al 25% y pruebas biológicas para la comprobación de la actividad antimicótica.
6. Se recomienda realizar más estudios de la planta de marco (*Franseria artemisoides*) ya que existe poca información de dicha planta.

CAPÍTULO VI

6 RESUMEN

Se elaboró un gel antimicótico al 25% a base de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), matico (*Aristiguetia glutinosa*) y marco (*Ambrosia arborescens*), cumpliendo con los requisitos físicos- químicos de calidad y estabilidad realizado en el laboratorio Farmacéutico Neo – Fármaco de la Ciudad de Ambato. Para ello se realizó el control de calidad de la materia prima, extracto fluido, producto en proceso y terminado, cumpliéndose con todos los parámetros establecidos en la Norma Ecuatoriana de Fitofármacos. La OMS; AOAC (Association of Official Analytical Chemist), y la Farmacopea Americana XXVIII. Se aplicaron análisis cromatográficos y espectrofotométricos; la estabilidad fue determinada mediante el método de Poppe que no necesita grandes cantidades de degradación del principio activo para determinar su vida útil. El gel sin antioxidante destinado como (F1) y el gel con antioxidante EDTA denominado por (F2), se envasaron en tubos colapsibles de plástico y aluminio; los cuales fueron sometidos a estabilidad acelerada, durante tres meses, a temperaturas de 20, 30 y 40 °C con una humedad relativa del 70%. Presentando parámetros de pH, viscosidad, extensibilidad y porcentaje de quercetina para F1 6,44; 54,65 cp; 4,26 mm ; 17,75% y F2 6,34; 54,64 cp ; 4,3 mm; 17,70%; mostraron también ausencia de microorganismos contaminantes. Por los resultados obtenidos del método de Poppe se llega a la conclusión que los dos geles tienen un tiempo de vida útil de 2 años.

Se recomienda comprobar la actividad antimicótica y avanzar en la investigación.

SUMMARY

Gel Antimicótico was elaborated to 25% with the help of camomile, matico and mark, fulfilling the physical-chemical requirements of quality and stability carried out in the Pharmaceutical laboratory Neo – Farmaco in Ambato city. It was carried out in the quality control of the raw material, fluid extract, product in process and ended, being fulfilled all the parameters settled down in the Ecuadorian norm Fitofarmacos. The OMS, AOAC, and American Pharmacopeia XXVII. Chromatographic analysis and spectrophotometricos were applied; the stability was determined by means of the method Poppe that doesn't need big quantities degradation of the active principle to determine its useful life. The gel without antioxidant dedicated as F1 and the gel with anti-rust EDTA denominated by F2, they were packed in tubes collapse them from plastic and aluminum, which were subjected to quick stability, during three months, to temperature 20, 30, 40°C with a relative humidity 70%. Presenting pH parameters, viscosity, extensibility and quercetina percentages for F1 6,44; 54,65 cp; 4,26 mm; 17,75% and F2 6,34; 54,64cp;4,30 mm; 17,70%; they also showed absence of polluting microorganisms. They obtained results of the method Poppe as a conclusion that the two gels have a time of 2 year-old useful life.

It is recommended to check the antimicótica activity and to advance in the investigation.

CAPÍTULO VII

7. BIBLIOGRAFÍA.

1. BIODIVERSIDAD.

Conceptos de Fitoterapia: Gordan Siss

<http://www.farmafitolab.med.uchile.cl/fitofarmacologia.fitoterapia.html>.

02052007

2. **CANDO, M.** 2006. Comparación del efecto cicatrizante de geles elaborados a base de propóleo y caléndula en heridas de conejos

<http://www.saludalia.com/starmedia/temas>.

02052007

3. CONTROL DE CALIDAD.

<http://www.calidad/eucerin.es/produccion/galening.html>.

20070617

4. CONTROL DE FORMULACIONES

<http://www.ffyb.uba.ar/farmacotecnia%2014/controlformulaciones%5B4tm>

20070823

5. **CORDERO, L.** 1950. Enumeración botánica: de las principales plantas así útiles como nocivas, andinas o aclimatadas, que se dan en las provincias del Azuay y del Cañar de la República del Ecuador. 2^a ed. Madrid: Afrodísio Aguado. pp. 251

6. **CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES: ARANEO P.**
http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol34_1_00/far07100.htm.
08082007
7. **CHAPALBAY, E.**2006. Elaboración de un gel de aloe para tratamiento del acné.
<http://www.medicina.usmp.edu.pe/congresomundial/000data/temlib.htm>.
20070528.
8. **DAR, A.** 1981.Tecnología Farmacéutica. 4^{ta} ed. Madrid: Acribia. pp. 29.
9. **DERMATOFITOS.** 1987. Micosis que afectan la piel y mucosas. pp. 12, 171-173.
http://en.citizendium.org/wiki/Microsporum_canis
20090222
10. **FITOMEDICAMENTOS.**
Fitomedicamento: Julian P.
<http://www.botanical-online.com/medicinalesestres.html>
20062007
11. **FITOTERAPIA CONCEPTOS DE FITOTERAPIA.**
Laboratorio de Farmacodinamia y Fitofarmacología.
<http://farmafitolab.med.uchile.cl/fitofarmacologia/fitoterapia.html>
20020417
12. **FLAVONOIDES.** Fuente de salud de origen vegetal.
<http://www.aldia.atonra.com/?p=374>
20071109.
13. **FLAVONOIDES.**
<http://www.geocities.com/aedici/flavonoides.htm>
20050301.

14. **GALLEGOS, J.** 2005. Prácticas de Microbiología de Alimentos. Riobamba: Docucentro ESPOCH. pp 19 – 21, 33 -35, 91 – 95.
15. **JARA, J.** 1987. Estudio Fitoquímico del extracto Metanólico de *Franseria artemisiodes Willd.* Tesis de Dr. en Química. Riobamba, Escuela Superior Politécnica del Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Doctorado en Química. pp. 16-18
16. **JÁTIVA, C.** 2004. Texto Básico de Farmacognosia de los vegetales a las Medicinas. Riobamba: Docucentro ESPOCH. pp. 56 – 59.
17. **JARRÍN P.** 2003. Tratamiento Del agua de Desamargado de chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*), proviene de La planta piloto de La Estación Santa Catalina INIAP. Tesis de doctor em Bioquímica y Farmacia, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. pp. 20,21,81.
18. **INFECCIONES FÚNGICAS SUPERFICIALES**
<http://www.uv.es/derma/CLindex/CLdermatofit.html>
20070511
19. **LEÓN, M.** 1969. Content of the Active principles of *Franseria artemisiodes*. (New York) 1(3): 21-48.
20. **MANZANILLA.**
<http://www.saludparati.com/manzanilla.htm>
20071109.
21. **MANZANILLA COMÚN, MANZANILLA DE ARAGÓN.**
<http://www.infojardin.net/fichas/plantas-medicinales/matricaria-chamomilla.htm>
20071209.

22. **MARTINEZ, E.** 2001. Regimen Legar de Salud. Quito: Corporación de Estudios y Publicaciones. pp. 57-58
23. **MARCO.**
<http://images.google.com.ec/images?hl=es&q=Ambrosia+L.UTF-20080209>.
24. **NARANJO, P.** 2000. Plantas del Ecuador. Quito: Universitaria. pp. 45, 256, 257.
25. **NORMAS ECUATORIANAS.** 1999. Fitoterápico Droga Cruda Especificaciones Generales. Quito- Ecuador: INEN. pp. 6 – 12.
26. **OROZCO R.** 2005 Elaboración de Gel, Pomada y Crema Antiviral de Bidens Pilosa con el control de Calidad. Tesis Dr. en Bioquímica y Farmacia. Riobamba. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. pp. 100.
27. **PLANTAS MEDICINALES.** Antigua y Nueva Alternativa de Salud.
<http://www.saludparti.com/plantasmedil.htm>
28. **PROPIEDADES Y USOS DEL MATICO.**
http://www.mundonuevo.cl/areas/Areas_Tematicas/Terapias_matico.php.
20080509.
29. **RENERIA A.** 2008 Diseño y Formulación de un Gel Antimicrobiano en base a Plata Coloidal. Tesis Químico Farmacéutico. Quito. Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Químicas. Escuela de Bioquímica y Farmacia. pp. 30 – 39.
30. **RUÍZ, R.** 19845. Nuevo Diccionario Médico. Barcelona. Teide S.A. pp. 113.

31. **SALAZAR, R.** 1998 Estabilidad de Medicamentos. Barcelona: Asociación de Farmacéuticos de la Industria. pp. 15-229.
32. **SBARBATI, N.** 1975. Norma Estabilidad de Medicamentos. Argentina: El Ateneo. pp. 5-17, 23-89.
33. **SEMINARIO IBEROAMERICANO DE ARMONIZACIÓN DE LA LEGISLACIÓN Y ESTADO DE LA COMERCIALIZACIÓN DE PLANTAS MEDICINALES Y PRODUCTOS DERIVADOS.** 2001. Reunión de Coordinación Internacional de la Red Iberoamericana de Productos Fitofarmacéuticos. 4^{ta} ed. Guatemala: 28 marzo del 2000. pp. 28-31, 35-40, 59-61.
34. **SÍNTOMAS PARA LA PRODUCCIÓN DE MICOSIS.**
<http://www.geocities.com/ralv7/micosis.htm>.
20070509.
35. **SUGERENCIAS PARA EL USO DE MATICO.**
http://www.mundonuevo.cl/areas/Areas_Tematicas/Terapias_Naturales/plantas_medicinales/matico.php.
20080909.
36. **TORRES, I. ALEGRE, M.** 2004 Estabilidad de Medicamentos de los Estudios Según la Normativa Actual de la Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria. Madrid- España pp. 89.
37. **UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION INC.**
The United States Pharmacopeia. USP 28. pp. 2107.

- 38. UREÑA, M.** 2005, Desarrollo de un Estudio de Estabilidad Acelerada en Fenasulte Cápsulas, Tesis, Dr. en Bioquímica y Farmacia. Riobamba. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. pp. 174.
- 39. VALIDACIÓN DE MÉTODOS.**
<http://www.geocities.com/ralv7/micosis.htm>.
20070509.
- 40. WAGNER, H.** 1996, Plant Drug Análisis. 2. Ed. Alemania: Munich. pp. 341.

CAPÍTULO VIII

ANEXOS

FOTOGRAFÍA No 5 ELABORACIÓN DEL EXTRACTO FLUIDO DE MANZANILLA, MATICO Y MARCO AL 25%. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. MAYO 2009



FOTOGRAFÍA No 6 ELABORACIÓN DEL GEL ANTIMICÓTICO SIN ANTIOXIDANTE DE MANZANILLA, MATICO Y MARCO. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JUNIO 2009.



FOTOGRAFÍA No 7 ELABORACIÓN DEL GEL ANTIMICÓTICO CON ANTIOXIDANTE (EDTA) DE MANZANILLA, MATICO Y MARCO. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JUNIO 2009.



FOTOGRAFÍA No 8 CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LA ELABORACIÓN DEL GEL ANTIMICÓTICO CON ANTIOXIDANTE (EDTA) DE MANZANILLA, MATICO Y MARCO. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JUNIO 2009.



FOTOGRAFÍA No 9 ESTUDIO DE ESTABILIDAD DURANTE 3 MESES. DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD. DEL LABORATORIO NEO - FÁRMACO. AMBATO. JULIO 2009.

