



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**"CONTROL DE CALIDAD DE COMPRIMIDOS ELABORADOS CON
EXTRACTOS DE ALCACHOFA (*Cynara scolymus*) y ROMERO (*Rosmarinus
officinalis*) PARA NEO-FÁRMACO"**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR

MARÍA BEATRIZ LEMA CEPEDA

RIOBAMBA – ECUADOR

2013

DEDICATORIA

A Dios por darme la vida y la fuerza necesaria para luchar por mis ideales y metas

A mis padres, en especial a mi madre Margarita, flor delicada que Dios plantó en mi vida para apoyarme y guiarme, por ser un ejemplo de lucha y entrega hacia sus hijos

A mis hermanos por su apoyo incondicional y amistad.

A mis amigos y seres queridos.

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

Al Laboratorio Neo-Fármaco del Ecuador por el apoyo brindado en la realización del trabajo investigativo y de manera especial al Dr. Rodrigo Peña Gerente General

A la Dra. Cumandá Játiva G. por sus conocimientos, dedicación y paciencia en la dirección de la presente Tesis

Al Dr. Segundo Trujillo A. Miembro del Tribunal de Tesis por el aporte brindado en la elaboración del trabajo

A todas las personas que colaboraron de cualquier manera para la culminación de este trabajo de investigación

*El que quiere hacer algo, encuentra el camino.
El que no quiere hacer nada, encuentra excusas.*

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: "**CONTROL DE CALIDAD DE COMPRIMIDOS ELABORADOS CON EXTRACTOS DE ALCACHOFA (*Cynara scolymus*) y ROMERO (*Rosmarinus officinalis*) PARA NEO-FÁRMACO**", de responsabilidad de la señorita egresada María Beatriz Lema Cepeda, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dra. Cumandá Játiva G.
DIRECTORA DE TESIS

Dr. Segundo Trujillo A.
MIEMBRO DE TRIBUNAL

Dra. Elizabeth Escudero
**DELEGADA POR EL DECANO
REVISAR LA FORMA DEL NOMBRAMIENTO**

NOTA DE TESIS ESCRITA

Yo, María Beatriz Lema Cepeda, 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

MARÍA BEATRIZ LEMA CEPEDA

ABREVIATURAS

cm	Centímetros
C _I	Cenizas insolubles en ácido clorhídrico
C _S	Cenizas solubles en agua
C _T	Cenizas Totales
°C	Grados Centígrados
dL	Decilitros
F.U.	Fórmula Unitaria
F.M.	Fórmula de Manufactura
g	Gramos
h	Horas
%H	Porcentaje de Humedad
kg	Kilogramo
kgf	Kilogramo fuerza
L	Litro
m	masa de la cápsula tarada (g)
m ₁	masa de la cápsula con la muestra antes de la incineración (g)
m ₂	masa de la cápsula con la muestra después de la incineración (g)
máx	Máximo
mg	Miligramos
mL	Mililitros
min	Minutos
OMS	Organización Mundial de la Salud
pH	Potencial de Hidrógeno
ppm	Partes por millón
PVP	Polivinilpirrolidona
Rf	Factor de retención
RPM	Revoluciones por minuto
UFC	Unidades Formadoras de Colonias
UV	Ultravioleta

ÍNDICE GENERAL

ABREVIATURAS
ÍNDICE DE CUADROS
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS
ÍNDICE DE ANEXOS
INTRODUCCIÓN

1 MARCO TEÓRICO	- 1 -
1.1 CONTROL DE CALIDAD.....	- 1 -
1.2 DROGAS CRUDAS.....	- 2 -
1.2.1 CALIDAD DE LAS DROGAS CRUDAS.....	- 2 -
1.2.2 FACTORES QUE INFLUYEN EN SU CALIDAD	- 3 -
1.2.3 CONTROL DE CALIDAD DE DROGAS NATURALES.....	- 3 -
1.3 EXTRACTOS BOTÁNICOS PARA FINES FARMACÉUTICOS- 4 -	
1.3.1 MACERACIÓN	- 4 -
1.4 FITOTERAPIA.....	- 5 -
1.4.1 BENEFICIOS	- 6 -
1.4.2 PRECAUCIONES	- 6 -
1.5 PLANTAS MEDICINALES	- 6 -
1.6 CARACTERIZACIÓN DE LA ALCACHOFA.....	- 7 -
1.6.1 ASPECTOS TAXONÓMICOS.....	- 7 -
1.6.2 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA	- 8 -
1.6.3 ORIGEN Y HÁBITAT.....	- 8 -
1.6.4 ETIMOLOGÍA	- 8 -
1.6.5 COMPOSICIÓN QUÍMICA	- 8 -
1.6.6 EFECTO FARMACOLÓGICO	- 9 -
1.6.7 CONTRAINDICACIONES	- 12 -
1.6.8 EFECTOS NO DESEADOS	- 12 -
1.6.9 FORMAS GALÉNICAS	- 13 -
1.7 CARACTERIZACIÓN DEL ROMERO.....	- 13 -
1.7.1 ASPECTOS TAXONÓMICOS.....	- 13 -
1.7.2 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA	- 14 -
1.7.3 ORIGEN Y HÁBITAT.....	- 14 -

1.7.4	ETIMOLOGÍA	- 14 -
1.7.5	COMPOSICIÓN QUÍMICA	- 14 -
1.7.6	EFEECTO FARMACOLÓGICO	- 15 -
1.7.7	CONTRAINDICACIONES	- 17 -
1.7.8	EFECTOS NO DESEADOS	- 17 -
1.7.9	FORMAS GALÉNICAS	- 17 -
1.8	FITOFÁRMACOS	- 18 -
1.8.1	COMPRIMIDOS	- 18 -
1.8.2	FORMULACIÓN	- 19 -
1.8.3	MÉTODOS DE FABRICACIÓN DE COMPRIMIDOS	- 23 -
1.8.4	CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTO TERMINADO	- 25 -
2	PARTE EXPERIMENTAL	- 29 -
2.1	LUGAR DE REALIZACIÓN	- 29 -
2.2	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS	- 29 -
2.2.1	MATERIAL VEGETAL	- 29 -
2.2.2	MATERIAL BIOLÓGICO	- 29 -
2.2.3	MATERIALES DE LABORATORIO	- 29 -
2.2.4	EQUIPOS	- 30 -
2.2.5	REACTIVOS	- 31 -
2.3	TÉCNICAS Y MÉTODOS	- 32 -
2.3.1	CONTROL DE CALIDAD DE MATERIA PRIMA	- 32 -
2.3.2	DETERMINACIÓN DE HUMEDAD	- 32 -
2.3.3	DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES	- 32 -
2.3.4	DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA	- 33 -
2.3.5	DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN HCl	- 34 -
2.3.6	PREPARACIÓN DE EXTRACTOS	- 34 -
2.3.7	PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO	- 35 -
2.3.8	CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXCIPIENTES	- 46 -
2.3.9	CONTROL DE CALIDAD DE LOS COMPRIMIDOS	- 48 -
2.3.9.1	IDENTIFICACIÓN DEL MARCADOR QUÍMICO	- 49 -
2.3.9.2	VALORACIÓN	- 50 -
2.3.9.3	ENSAYOS FARMACOLÓGICO Y TOXICOLÓGICO DE LOS COMPRIMIDOS	- 51 -
3	RESULTADOS Y DISCUSIONES	- 54 -
3.1	CONTROL DE CALIDAD DE LA ESPECIE VEGETAL	- 54 -

3.2	DETERMINACION DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD DEL EXTRACTO.....	- 55 -
3.3	CONTROL DE CALIDAD DEL PROCESO DE FABRICACIÓN DE LOS COMPRIMIDOS.....	- 57 -
3.4	IDENTIFICACIÓN DEL MARCADOR QUÍMICO.....	- 59 -
3.4.1	CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA PARA DETECCIÓN DE TERPENOS	- 59 -
3.4.2	VALORACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO	- 60 -
3.5	COMPROBACIÓN DE LA ACTIVIDAD TERAPÉUTICA.....	- 61 -
3.6	ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA.....	- 63 -
4	CONCLUSIONES	- 64 -
5	RECOMENDACIONES.....	- 66 -
6	RESUMEN	- 67 -
7	SUMMARY	- 68 -
8	BIBLIOGRAFÍA	- 69 -
9	ANEXOS	- 76 -

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro no. 1	lista de excipientes utilizados para la elaboración de comprimidos fitofarmacéuticos..... - 46 -
cuadro no. 2	excipientes utilizados para la elaboración de comprimidos fitofarmacéuticos..... - 46 -
cuadro no. 3	absorbancia de las muestras del extracto de alcachofa a diferentes diluciones - 51 -
cuadro no. 4	absorbancia de las muestras del extracto de romero a diferentes diluciones..... - 51 -
cuadro no. 5	resultados de la determinación de humedad, cenizas totales, insolubles en hcl y agua en las plantas pulverizadas de alcachofa (<i>cynara scolymus</i>) y romero (<i>rosmarinus officinalis</i>). Realizado en el departamento de control de calidad del laboratorio neo-fármaco cia. Ltda. Ambato. Noviembre 2012..... - 54 -
cuadro no. 6	resultados de las descripción organoléptica, parámetros físicos, tamizaje fitoquímico y análisis microbiológico de los extractos de alcachofa (<i>cynara scolymus</i>) y romero (<i>rosmarinus officinalis</i>). Realizado en el departamento de control de calidad del laboratorio neo-fármaco cia. Ltda. Ambato. Noviembre 2012. - 56 -
cuadro no. 7	determinación de la humedad del granulado para los comprimidos. Realizado en el departamento de control de calidad del laboratorio neo-fármaco cía. Ltda. Ambato. Enero 2013 - 58 -
cuadro no. 8	resultados de la determinación de la concentración de cinaropicrina y ácido rosmarínico en función de la absorbancia..... - 60 -
CUADRO No. 9	RESULTADOS DEL % DE PÉRDIDA DE PESO DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS - 62 -
CUADRO No. 10	RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA DE UN FACTOR LSD AL 95%..... - 62 -
CUADRO No. 11	RESULTADO ESTADÍSTICO PARA GRUPOS HOMOGÉNEOS APLICANDO TUKEY LSD al 95.0%... - 62 -
CUADRO No. 12	CUADRO DE COMPARACIONES MÚLTIPLES..... - 63 -
CUADRO No. 13	RESULTADO DE LOS SIGNOS CLÍNICOS PRESENTES EN EL ANIMAL DE ESTUDIO..... - 64 -

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No. 1	Planta de Alcachofa, <i>Cynara scolymus</i>- 7 -
FOTOGRAFÍA No. 2	Planta de Romero, <i>Rosmarinus officinalis</i>- 13 -
FOTOGRAFÍA No. 3	Placa Cromatográfica del Extracto de Alcachofa (<i>Cynara scolymus</i>)- 59 -
FOTOGRAFÍA No. 4	Placa Cromatográfica del Extracto de Romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>).....- 60 -
FOTOGRAFÍA No. 5	Resultado de la Variación de Peso entre la L-Carnitina y el Grupo Control.....- 61 -

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO No. 1	Certificado de Análisis del Almidón de Maíz..... - 76 -
ANEXO No. 2	Certificado de Análisis de Lactosa Monohidratada - 76 -
ANEXO No. 3	Certificado de Análisis del Stach 1500 - 77 -
ANEXO No. 4	Certificado de Análisis del Polivinilpirrolidona (PVP) K30... .. - 78 -
ANEXO No. 5	Certificado de Análisis del Estearato de Magnesio..... - 78 -
ANEXO No. 6	Certificado del Talco - 79 -
ANEXO No. 7	Certificado del Almidón Glicolato - 80 -
ANEXO No. 8	Ensayo Farmacológico - 81 -
ANEXO No. 9	Registro de pesos de los ratones del tratamiento con L-carnitina, Grupo Control y Blanco. - 81 -
ANEXO No. 10	Registro de pesos de los ratones (<i>Mus musculus</i>) el Grupo con Dosis Alta. - 81 -
ANEXO No. 11	Registro de pesos de los ratones (<i>Mus musculus</i>) el Grupo con Dosis Media..... - 82 -
ANEXO No. 12	Registro de pesos de los ratones (<i>Mus musculus</i>) el Grupo con Dosis Baja..... - 82 -
ANEXO No. 13	Determinación de humedad..... - 83 -
ANEXO No. 14	Determinación de cenizas totales - 83 -
ANEXO No. 15	Concentración del extracto alcohólico - 84 -
ANEXO No. 16	Determinación de parámetros físico-químicos de los extractos - 84 -
ANEXO No. 17	Análisis Microbiológico de los Extractos - 84 -
ANEXO No. 18	Proceso de Manufactura de los comprimidos..... - 85 -
ANEXO No. 19	Control de Calidad de comprimidos fitofarmacéuticos..... - 86 -
ANEXO No. 20	Control Microbiológico de los comprimidos fitofarmacéuticos. - 87 -

INTRODUCCIÓN

La industria farmacéutica se ha basado en los conocimientos tradicionales para la síntesis y elaboración de fármacos y el proceso de verificación científica de estas tradiciones continúa hoy en día, descubriéndose constantemente nuevas aplicaciones. Muchos de los fármacos empleados actualmente se replican sintéticamente o aíslan los principios activos de vegetales tradicionales conocidos incluso desde épocas prehistóricas.

El papel que juegan hoy las plantas medicinales, tanto como: fuente de salud para el hombre, conservación de la naturaleza y fuente de ingresos económicos para cultivadores, comerciantes, colectores y manufactureros, es una contribución importante al proceso de desarrollo de los pueblos.

Con el avance de la tecnología farmacéutica se pueden elaborar fitofármacos seguros, eficaces y estandarizados, es decir, con su respectivo control de calidad, que ayudará a disminuir la utilización empírica de las plantas medicinales.

Esta investigación se llevó a cabo con el objetivo de: realizar el Control de Calidad de comprimidos elaborados con extractos de Alcachofa (*Cynara scolymus*) y Romero (*Rosmarinus officinalis*) para Neo-Fármaco, mediante el control de calidad de las drogas crudas, clasificación botánica, grupos fitoquímicos y análisis microbiológico, cuantificar el principio activo presente en cada uno de los extractos por procesos cromatográficos y espectroscópicos UV, comprobar la actividad adelgazante de los extractos mediante la administración de tres diferentes dosis en ratones (*Mus musculus*) para determinar la dosis farmacológicamente efectiva y evaluar la calidad física, química y microbiológica de los fitofármacos.

Los principios activos de las plantas se extrajeron mediante maceración, obteniendo de esta forma el extracto utilizado como materia prima.

Los procesos de control de calidad de: las especies vegetales (determinación del contenido de humedad, cenizas totales, insolubles en ácido clorhídrico y solubles en agua), los

extractos (descripción organoléptica, parámetros físicos y análisis microbiológicos de los extractos), proceso de manufactura (humedad del granulado antes de su compresión), control del producto terminado (aspecto, análisis geométrico de los comprimidos, variación de peso, dureza, desintegración, friabilidad, análisis microbiológico) y el estudio analítico de los comprimidos fitofarmacéuticos, fueron realizados en el Laboratorio Neo-Fármaco Cía. Ltda. del Departamento de Control de Calidad y Producción.

Mientras que, el proceso de determinación de los parámetros de calidad de los extractos (reacciones de caracterización, tamizaje fitoquímico), identificación del marcador químico (cromatografía de capa fina para identificación de terpenos y flavonoides), se realizaron en el Laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Ciencias-ESPOCH. Y la comprobación de la actividad terapéutica como efecto adelgazante en ratones mediante la administración por vía oral de los comprimidos en solución se realizó en el Bioterio de la Facultad de Ciencias-ESPOCH, obteniéndose un fitomedicamento con actividad adelgazante de buena calidad.

CAPÍTULO I

1 MARCO TEÓRICO

1.1 CONTROL DE CALIDAD

ISO define calidad como: “la totalidad de rasgos y características de un producto, proceso o servicio que inciden en su capacidad de satisfacer necesidades reguladas o implícitas”. Según ésta definición, cuando se utiliza la expresión de “buena calidad” se pretende remarcar la excelencia de un producto o servicio y el cumplimiento de las especificaciones, cualitativas o cuantitativas, acordadas previamente con el cliente y definidas por la autoridad competente. (25)

Si la calidad es un parámetro importante en todos los sectores industriales, ésta es aún de más relevancia en la industria farmacéutica. Por la finalidad y naturaleza de los productos farmacéuticos, la exigencia de calidad de éstos es mayor, debido a los posibles efectos perjudiciales para la salud. La calidad de un producto farmacéutico puede atribuirse al cumplimiento de dos condiciones básicas:

- Que el producto farmacéutico en cuestión sea efectivo en el tratamiento de una patología.
- Que no provoque efectos perjudiciales o no deseados, es decir que sea seguro para la salud. (25) (32)

Hay dos partes importantes, que involucra el control de calidad de los Productos Naturales Medicinales:

- Análisis de materia prima (Droga Cruda y Material semiprocésado –Extractos)
- Producto Terminado

El análisis y control de las drogas vegetales y derivados, especialmente productos extractivos, constituye uno de los pasos imprescindibles que debe efectuarse previamente a su utilización en un proceso de elaboración industrial o magistral de medicamentos. Su realización responde a la necesidad de asegurar su identidad, de garantizar su pureza, es decir, descubrir eventuales adulteraciones, falsificaciones o contaminaciones, certificar su estado de conservación e identificar y valorar su contenido en principios activos, los cuales son, en definitiva, los responsables de su acción farmacológica y los que le confieren valor terapéutico. (41)

1.2 DROGAS CRUDAS

La materia prima vegetal en la industria de fitofármaco está representada, en la mayoría de las ocasiones, por la droga seca, una vez que el material ha sido sometido a procesos de secado y estabilización. (16)

Las condiciones de secado deben ser estudiadas debidamente pues la humedad excesiva, la incidencia de Sol directo y el polvo atmosférico deterioran el material destruyendo sus propiedades medicinales, con la consecuente disminución de la calidad de la materia prima. Lo recomendable es secar el material hasta un 10% de humedad. El secado del material interrumpe los procesos enzimáticos en las células vegetales e impide el crecimiento de los microorganismos, facilitando el almacenamiento y transporte de este material sin riesgo de deterioro. Entre los métodos de secado más utilizados encontramos: secado en estufa, secado al sol y secado a la sombra, siempre teniendo en cuenta que el secado del material vegetal se debe realizar a condiciones moderadas de temperatura. (16) (34)

1.2.1 CALIDAD DE LAS DROGAS CRUDAS

La calidad de las drogas crudas depende de numerosos factores que hacen variar la proporción de constituyentes lo que incide en la calidad del producto terminado. Por ello, la calidad del producto final no puede ser asegurado sin el uso de una droga cruda de buena calidad, independientemente de cuan especial es su proceso de manufactura.

Las drogas vegetales requieren el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura, donde la documentación de los tratamientos realizados a la planta medicinal, desde su lugar de origen hasta su manufactura, constituyen una obligación. (36)

1.2.2 FACTORES QUE INFLUYEN EN SU CALIDAD

Los factores que están relacionados directamente con la cantidad de principios activos, son:

- Genéticos
- Estado de desarrollo
- Climáticos
- Nutricionales
- Fuente de obtención
- Tratamientos post-colecta o post-cosecha
- Almacenamiento.

Pérdidas de principios activos está relacionado con:

- Degradación por procesos metabólicos
- Hidrólisis de los principios activos
- Descomposición por la luz
- Descomposición enzimática
- Degradación de sustancias termolábiles por el calor
- Volatilización de los aceites esenciales
- Contaminación por hongos y bacterias. (41)

1.2.3 CONTROL DE CALIDAD DE DROGAS NATURALES

El objetivo es garantizar su identidad, pureza y potencia, para lo cual se utilizan métodos cualitativos y cuantitativos, con la aplicación de diferentes técnicas, entre ellas, físicas, químicas, microbiológicas y farmacológicas.

1.3 EXTRACTOS BOTÁNICOS PARA FINES FARMACÉUTICOS

Se obtienen mediante la separación de porciones biológicamente activas presentes en los tejidos de plantas, con el uso de un solvente (alcohol, agua, glicerina, propilenglicol y mezclas de estos líquidos) y un proceso de extracción adecuado. En el proceso de escogencia de un solvente determinado es necesario considerar aspectos relacionados con la selectividad, facilidad de manipulación, precio, seguridad y los riesgos en cuanto a una posible contaminación ambiental. Sin embargo, el aspecto más importante a considerar es el grado de toxicidad del solvente. Por esta razón, los productos fitoterapéuticos son elaborados, principalmente por mezclas hidro-alcohólicas. (16)(34)

La extracción sólido-líquido es una operación que está presente prácticamente en todos los procesos tecnológicos relacionados con la industria química y médico-farmacéutica; dentro de ésta, los métodos de extracción por maceración y percolación o lixiviación son los más utilizados. (34)

1.3.1 MACERACIÓN

El material crudo previamente triturado se pone en contacto duradero con cantidad suficiente de solvente, en un tanque cerrado a temperatura ambiente durante 2-14 días hasta el agotamiento de la droga vegetal. Puede utilizarse agitación. Posterior a este tiempo la mezcla es filtrada, el material insoluble es lavado con el mismo solvente y los filtrados se mezclan para concentrar el extracto. (34)

a. Obtención de Extractos

Es importante establecer los parámetros de extracción para lograr la estandarización del proceso, esto garantizará la calidad, rendimiento, seguridad y eficacia del producto medicinal, por ejemplo:

- **Naturaleza química de la materia prima vegetal:** conocer las características del metabolito o compuesto químico a extraer.
- **Selección del solvente:** definir la selectividad del solvente a emplear, el solvente óptimo será el que logre extraer un mayor rendimiento del compuesto de interés.

La separación sólido-líquido permite retirar el residuo de la droga después de la extracción. En la industria se emplean procedimientos de sedimentación, filtración o centrifugación. (34)

b. Concentración

Una vez que se ha realizado la etapa de extracción y separación, se procede a eliminar parte del solvente para aumentar el contenido de sólidos en el extracto. Este proceso se realiza a presión reducida con lo que se disminuye la temperatura de calentamiento necesaria para la salida del solvente, el rotavapor es una buena alternativa para trabajos en el laboratorio y es ampliamente usado mientras que sistemas análogos se utilizan a escala industrial (evaporadores, condensadores). (34)

c. Control de calidad de extractos vegetales

Como las drogas naturales, los extractos vegetales deben ser evaluados en cuanto a: identidad, pureza y potencia.

Para la identidad se utiliza: la caracterización organoléptica y métodos químicos: tamizaje fitoquímico, cromatografía y espectrofotometría UV.

1.4 FITOTERAPIA

Se define como la ciencia que estudia la utilización de los productos de origen vegetal con finalidad terapéutica, ya sea para prevenir, atenuar o curar un estado patológico. La Fitoterapia se basa en la Farmacognosia, el estudio de los productos naturales. La Farmacognosia incluye la identificación, los métodos de extracción y las aplicaciones de constituyentes específicos de las plantas responsables de determinadas acciones terapéuticas. Estos constituyentes se extraen, purifican y se estudian in vitro, in vivo y en investigación clínica. Pueden concentrarse para administrar dosis estandarizadas. (7) (19)

1.4.1 BENEFICIOS

- Si bien los productos fitoterápicos suelen tener márgenes terapéuticos más amplios y suelen dar menos efectos secundarios que los fármacos sintéticos, natural no es sinónimo de inocuo.
- Actualmente, existe una base científica que apoya la eficacia de muchos productos fitoterápicos para determinadas indicaciones.
- La eficacia se consigue sólo con el uso adecuado de los preparados fitoterápicos, tanto a lo que se refiere a indicaciones como la forma de administración. (19)
- Son menos costosos que los productos químicos aislados o los fármacos de prescripción sintética. (7)

1.4.2 PRECAUCIONES

- Muchas plantas tienen contraindicaciones específicas para su uso cuando existen determinados trastornos médicos.
- No todos los remedios pueden administrarse con seguridad a niños pequeños, lactantes y embarazadas.
- Algunas son tóxicas, incluso mortales en grandes cantidades, y existen pocas investigaciones sobre la toxicidad crónica que puede derivar del uso prolongado.
- El autodiagnóstico y el autotratamiento con productos medicinales botánicos pueden ser peligrosos. Siempre es necesario consultar con un profesional experto en el tema antes de seguir una pauta de tratamiento. (7)

1.5 PLANTAS MEDICINALES

Son aquellos vegetales que elaboran principios activos, que ejercen una acción farmacológica, beneficiosa o perjudicial sobre el organismo vivo. (15)

Los expertos de la OMS la definen como toda especie vegetal, de la cual toda o una parte de la misma está dotada de actividad farmacológica y puede clasificarse en:

- a. Aquellas destinadas en forma exclusiva a la obtención principios activos responsables de la acción farmacológica.
- b. Planta o parte de ella usados como tales, o bien bajo la forma de alguno de los distintos tipos de extractos que pueden obtenerse a partir de ellas. (24)

De acuerdo con la Organización Panamericana de la Salud, una planta medicinal es:

- i. Cualquier planta usada para aliviar, prevenir o curar cualquier enfermedad o alterar un proceso fisiológico y patológico.
- ii. Cualquier planta empleada como fuente de fármacos o sus precursores. (24)

1.6 CARACTERIZACIÓN DE LA ALCACHOFA



FOTOGRAFÍA No. 1 PLANTA DE ALCACHOFA, *Cynara scolymus*

1.6.1 ASPECTOS TAXONÓMICOS

Clasificación Botánica

Familia: Asteráceas (Compuestas)

Nombre científico: *Cynarascolymus*L.

Nombres comunes: Alcachofa, alcachofera, alcaucil. (26)

1.6.2 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

La alcachofa (*Cynara scolymus* L.) es una planta herbácea de hasta 1.5 m de altura. Las hojas son grandes, segmentadas, de color verde, en sus márgenes presentan espinas amarillentas. El tallo es grueso y acanalado. Las cabezuelas florales son de color azul violáceo, en la base de las cuales se encuentra la parte comestible. (1) (40)

1.6.3 ORIGEN Y HÁBITAT

Es originaria de Etiopía desde donde se extiende a la zona mediterránea. Los árabes, durante la Edad Media, extendieron el cultivo por Europa, mejoraron las variedades y sus cualidades gastronómicas. Los griegos y los romanos propagaron su fama como alimento afrodisíaco. (2) (22) (27)

Traído a Brasil por inmigrantes europeos, que se utiliza como alimento, medicina y la industria de bebidas (COSTA 2009; Noldin 2003, Schultz 2004). (30) (50)

1.6.4 ETIMOLOGÍA

La palabra alcachofa parece que deriva de un término árabe que significa "lengüetas de la tierra", en referencia a sus singulares hojas. (28)

1.6.5 COMPOSICIÓN QUÍMICA

- Ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico (2%). Cinarina, ácidos clorogénico, neoclorogénico, criptoclorogénico, cafeico, cafeilquínico, dicafeilquínico. (18) (19)
- Lactonas sesquiterpénicas (4%). Cinaropicrina (47-83%), cinaratriol, grosheimina, deshidrocinaropicrina. (26)
- Flavonoides (0.1-1%). Apigenina, luteolina, heterósidos de luteolina como escolimósido, cinarotriósido, rutina. (26)
- Ácidos orgánicos: láctico, fumárico, glicérico, cítrico, málico. (2) (19)
- Fitosteroles: sitosterol, estigmasterol. (2)

- Glúcidos: inulina, mucílagos, pectinas, azúcares.(2)
- Sales potásicas y magnésicas, mucílagos, aceite esencial (muuroleno, beta-selineno, alfa-humuleno, alfa-cedreno), taninos, alcoholes triterpénicos (taraxasterol), vitaminas (A, B₂ y C). (19) (43)

1.6.6 EFECTO FARMACOLÓGICO

a. Hipolipemiente e hipocolesterolemiente

La administración oral de extracto de alcachofa aumentó el flujo biliar en ratas (Saenz-Rodríguez et al.,2002). Tal acción colerética también se ha documentado en los seres humanos (Kirchhoff et al., 1994). En primer lugar el cultivo de hepatocitos de rata (Gebhardt, 1998) así como en células HepG2 (Gebhardt, 2002), en donde los extractos de alcachofa inhiben la biosíntesis del colesterol, probablemente debido a una inhibición indirecta de la 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa (Gebhardt, 1998). A una concentración de 0.1 mg/mL se produce una disminución de la actividad de la 3-hidroxi-3-metilglutarilCoA-reductasa del 20% y a 1 mg/mL asciende al 65%. Se ha comprobado que la actividad es debida al cinaratriósido y sobre todo a su genina luteolina. Además aumenta la eliminación de bilis que tiene un efecto coadyuvante facilitando el drenaje del colesterol. (37)(26)

Con respecto al modo de acción para el tratamiento de hipercolesterolemia (Brand, 1990), la reducción de los niveles elevados de colesterol en el suero de alcachofa es debido a una inhibición de la incorporación de acetato en la fracción insaponificable de los lípidos y por lo tanto reducir la biosíntesis colesterol (Gebhard, 1995, Gebhard, 1996). (38)

Los efectos hipocolesteremiantes se han demostrado en 302 pacientes con una reducción significativa ($p < 0.001$) del colesterol total desde 266 mg/dL a 232 mg/dL (reducción del 11.5%) y un efecto hipotrigliceremiente con reducciones del 12.5%. (29)

En un reciente estudio de aislamiento biodirigido se han aislado sesquiterpenos tipo guayanólido (cinaropicrina, aguerina B y groseimina) con actividad hipolipemiente. (28)

La cinaropicrina, principio amargo es una lactonasesquiterpénica. Tiene acción colerética (favorece la secreción de bilis), colagoga (aumenta la síntesis de bilis) y hepatoprotectora. Ejerce un efecto diurético y posee propiedades digestivas. Es también hipolipemiente e hipoglucemiante, útil en tratamientos de trastornos digestivos y dispepsias de origen hepatobiliar. Indicada en casos de hepatitis, arteriosclerosis y en diabetes. (21)

b. Colerético y colagogo

Estudios en humanos han mostrado su actividad colerética. A modo de ejemplo, en un estudio se demostraron incrementos en la coleresis mayores al 100% a los 30 min de una administración intraduodenal de 1.92 g de extracto estandarizado. (28)

Las hojas de alcachofa han demostrado en ensayos in vivo aumentar la producción y la eliminación de bilis por la presencia de derivados del ácido cafeilquínicos (cinarina y ácido clorogénico) y la cinaropicrina, que es una lactona sesquiterpénica,. (19) (26) (27)

En un estudio post-comercialización con una duración de 6 semanas, se ha comprobado el efecto colerético en 557 pacientes con trastornos digestivos y hepatobiliares. Se observó una disminución significativa de los síntomas de la dispepsia (dolor abdominal, flatulencia, náuseas). (26)

Se ha informado de que la cinarina (1.3 dicafeilquínico) es el principal responsable de las actividades colagoga y colerética (2001 Teske, novación, 1996, Blumenthal, 2000; SCOP 2009). Sin embargo, los estudios han demostrado también la importancia de flavonoides no sólo en la inhibición de la biosíntesis y el aumento de la excreción del colesterol hepático (Gebhardt, 1998), así como actividad en planta anti-trombótica y anti-aterosclerótica(Li, 2004). (30)

Normalmente el hígado secreta 800 mL diarios de bilis. Luego de la ingesta de 500 g de alcachofa la producción de bilis aumenta a 1.2 L. La bilis se hace más fluida, lo que descongiona el hígado, favoreciendo la desintoxicación. A través de la bilis el organismo elimina sustancias tóxicas de la sangre. (26)

c. Hepatoprotector

La planta presenta actividad hepatoprotectora, a la que puede contribuir su actividad antirradical, en parte es debida a la acción captadora de los radicales libres de sus derivados polifenólicos, recomendado en casos de hepatitis, colelitiasis, y otras afecciones biliares. (29) (27)

Los hepatocitos de rata cultivadas y protegidos contra el estrés oxidativo inducido del peróxido de hidrógeno (Gebhardt, 1997). El extracto de alcachofa también inhibe la oxidación de LDL (Brown y Rice Evans, 1998) y redujo la producción de especies reactivas de oxígeno intracelulares por las LDL oxidadas en cultivos de células endoteliales. (Zapolska-Downar et al., 2002). (37)

Se ha comprobado que la alcachofa tiene un efecto hepatoestimulante y hepatoprotector frente al tetracloruro de carbono. (27)

d. Otros efectos

Las principales propiedades están relacionadas con los procesos que intervienen en la digestión: eupéptica, colerética, colagoga, antiemética y aperitiva, en las que parecen intervenir los derivados cafeilquínicos, en especial la cinarina y el ácido clorogénico, y las lactonas sesquiterpénicas como la cinaropicrina. (27)

En un estudio de aislamiento biodirigido se han aislado sesquiterpenos tipo guayanólido (cinaropicrina, aguerina B y groseimina) con actividad hipolipemiante. (27)

En un estudio de postcomercialización realizado en más de 500 pacientes dispépticos tratados durante 6 semanas con extracto de hoja de alcachofa se muestran acciones: carminativa, espasmolítica, estimulante del apetito y antiemética. (29)

El extracto de alcachofa se utiliza para tratar los problemas de dispepsia (gastritis, meteorismo y flatulencia, gastropatía nerviosa, el síndrome del intestino irritable,

enfermedad funcional del tracto biliar), especialmente los causados por problemas funcionales relacionados con el sistema biliar descendente. Sus hojas tienen propiedades coleréticas, diuréticas e hipocolesterolémicas, es también hepatoestimulante y hepatoregeneradora (Ernst 1995; Lietti 1977; Fintelmann, 1996; ADZET 1987). (30)

1.6.7 CONTRAINDICACIONES

- Hipersensibilidad a la alcachofa o a otras especies de la familia de las compuestas. (26)
- Obstrucción biliar. La alcachofa podría producir cólicos biliares y agravar la obstrucción debido a su efecto colagogo/colerético. (18) (26)
- Lactancia. La alcachofa no debe usarse durante la lactancia debido a que puede disminuir la secreción de leche y a que los principios amargos pueden acceder la leche materna y conferirle un sabor desagradable. (26)
- Categoría A de la FDA (Food and Drug Administration), lo que implica que su uso es seguro durante el embarazo. (26)

1.6.8 EFECTOS NO DESEADOS

- No se han descrito efectos adversos en estudios de 6 meses de duración con 203 pacientes. En un estudio realizado con 553 pacientes, solamente 7 pacientes (1.3%) mostraron efectos adversos leves: flatulencias, debilidad y aumento del apetito. (29)
- Se han descrito reacciones alérgicas tras administración oral, por lo que se recomienda precaución en caso de alergia a otra compuestas. (28) (29)
- Alérgicas/dermatológicas. La droga posee un potencial medio de sensibilización por vía tópica por lo que raramente puede producir reacciones de hipersensibilidad o dermatitis por contacto. (18) (26)

Sin embargo, la base de datos FEDRA (Farmacovigilancia Española, Datos de Reacciones Adversas) del Sistema Español de Farmacovigilancia, recoge que ha habido casos de malformaciones arteriovenosas (malformación vascular periférica) en fetos de mujeres embarazadas consumidoras de alcachofa. (26)

1.6.9 FORMAS GALÉNICAS

- Droga pulverizada: 2 g/8 h (26), 6 g por día (18)
- Extracto fluido, 1:1 (g/mL): 2 mL/8 h.
- Extracto seco, 5:1 (g/g): 500 mg/24 h.
- Tintura, 1:5 (g/mL): 6 mL/8 h. (26)
- Infusiones preparadas con 50 a 100 g de hojas por L de agua, antes de las comidas o preparar un zumo o jugo en licuadora. (28) (50)

1.7 CARACTERIZACIÓN DEL ROMERO



FOTOGRAFÍA No. 2 PLANTA DE ROMERO, *Rosmarinus officinalis*

1.7.1 ASPECTOS TAXONÓMICOS

Clasificación Botánica

Familia: Lamiaceae

Nombre científico: *Rosmarinus officinalis* L. (11) (49)

Nombres comunes: Romero, rosemary, romarin, rosmarino. (44)

1.7.2 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

El romero tiene una raíz leñosa profunda, que se ramifica en varias ramas de las que salen hojas de 2-3 cm a ambos lados. Las hojas son de color verde oscuro por arriba y verde pálido por la parte de abajo, y las flores azules o violetas crecen agrupadas. (17) (43)

Toda la planta desprende un fuerte y aromático olor, algo alcanforado. Su sabor característico también es aromático, pero áspero y algo picante. (11) (50)

1.7.3 ORIGEN Y HÁBITAT

El romero es una especie vegetal común en la península Ibérica y, en general, en toda la cuenca mediterránea. Se utiliza desde la Antigüedad en la medicina tradicional, gracias a las múltiples propiedades que se le han atribuido históricamente. Este propio de zonas secas y áridas, es originario de la zona mediterránea, donde también se cultiva. (11)

De hecho, sus principales países productores son España, Marruecos y Túnez. En la actualidad se encuentra ampliamente distribuida por todo el planeta.(11) (44)

1.7.4 ETIMOLOGÍA

El nombre científico "Rosmarinus" parece derivarse tanto de las palabras en latín "Ros": Rocío y "Marinus" Marino, o en los términos griegos "Rhops" arbusto y "Myrinos": Aromático. (33) (46)

1.7.5 COMPOSICIÓN QUÍMICA

- El aceite esencial (0-2.5%) está compuesto por: 1.8-cineol (30%), canfor (15 a 25%), borneol (16 a 20%), acetato de bornilo (máx. 7%), a-pineno (máx. 25%). (40)
- Sesquiterpenos, como beta cariofileno. (11)
- Principios amargos, constituidos por diterpenos (picrosalvina, carnosol, isorosmanol, rosmadial, rosmaridifenol, rosmariquinona) (11) (43)
- Triterpenos del 2-4%: ácidos oleanólico y ursólico, y sus 3-acetil-ésteres (11)

- Flavonoides(cirsimarina, diosmina, hesperidina, homoplantiginina, fegopolina, nepetina ynepitrina) y polifenoles (ácido rosmarínico, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico). (11)
- Alcaloide: la rosmaricina (33)

1.7.6 EFECTO FARMACOLÓGICO

a. Colerético y colagogo

El efecto favorable que ejerce en la digestión se produce al actuar sobre varios niveles. En primer lugar, estimula la producción de los jugos gastrointestinales. Además, relaja el músculo liso gastrointestinal, elimina posibles espasmos y favorece las secreciones. Al relajar el cardias, tiene un efecto carminativo y colagogo, gracias a la relajación del esfínter de Oddi. (44)

Los ácidos fenólicos son responsables de su actividad hidrocolerética, colagoga y diurética, a la que también contribuyen los flavonoides.(45)

b. Efectos antiinflamatorios

Se ha comprobado en animales de experimentación que el ácido rosmarínico incrementa la producción de prostaglandina E2 y reduce la producción de leucotrieno B4 en leucocitos polimorfonucleares humanos. Asimismo se ha observado que este ácido fenólico inhibe el sistema del complemento. (11)

Los ácidos ursólico, oleanoico y micromérico, así como los triterpenos serían los componentes antiinflamatorios principales del romero. (35)

c. Propiedad Anti-Diabética

Un estudio concluye que el romero posee propiedades antioxidantes y antidiabéticas en el conejo tratado con aloxano. En otros estudios experimentales se obtienen resultados

similares, así como propiedades antineurodegenerativas y frente a enfermedades cardiovasculares. Otros autores concluyen que el efecto antidiabético del carnosol y el ácido carnósico. Algunos estudios parecen sugerir que el aceite volátil de *Rosmarinus officinalis* posee un efecto antihiper glucémico e inhibidor de la liberación de insulina en el conejo de laboratorio. (35)

d. Efecto Hepatoprotector

Algunos trabajos de tipo experimental indican que el romero posee propiedades hepatoprotectoras frente a la toxicidad inducida por azatioprina y tetracloruro de carbono, bloqueando la elevación plasmática de transaminasas y la necrosis inducida por aquel fármaco. El efecto protector podría residir en los compuestos fenólicos (carnosol). (35)

e. Acciones varias

De los resultados de un estudio experimental se desprende que la planta posee un extenso potencial terapéutico, especialmente los derivados del ácido cafeico, como el ácido rosmarínico, que podría abarcar desde la prevención y el tratamiento del asma bronquial, trastornos espasmódicos, úlcera péptica, enfermedades inflamatorias, toxicidad hepática, enfermedad isquémica coronaria, cataratas, deficiente motilidad de los espermatozoides y cáncer. El efecto relajante del aceite volátil del romero sobre el músculo liso traqueal es sugestivo de propiedades calcio antagonistas de este componente. (35)

El ácido carnósico es un antioxidante, que protege el cerebro contra el infarto y la neurodegeneración a causa de las toxinas y los radicales libres, responsables de enfermedades como la demencia y el alzheimer. (47)

La esencia de la planta tiene propiedades antibacterianas, antisépticas, fungicidas y balsámicas. Es por este efecto balsámico por lo que se suele emplear para combatir afecciones respiratorias. A su vez, tiene un efecto rubefaciente y cicatrizante. (11)

1.7.7 CONTRAINDICACIONES

- El romero no debe usarse en el transcurso del embarazo, ya que existe la posibilidad de que induzca un aborto espontáneo por su posible efecto estrogénico. (11)
- Tampoco debe emplearse durante la lactancia. (11) (33)
- La intoxicación por una sobredosis en el consumo de infusiones de romero podría derivar en un cuadro caracterizado por espasmo abdominal, vómitos, gastroenteritis, hemorragia uterina e irritación renal.
- El aceite esencial en concentraciones elevadas puede ser tóxico para el sistema nervioso central y provocar convulsiones. Por este motivo, no se recomienda su uso durante períodos de tiempo prolongados o a dosis mayores a las recomendadas y se debe tener especial cuidado cuando se usa en niños.
- No es recomendable en personas con cálculos biliares, ya que cuando existe litiasis biliar, un aumento del drenaje de la vesícula biliar puede ir acompañado de una obstrucción de los conductos biliares. (11)

1.7.8 EFECTOS NO DESEADOS

Se considera que el principio activo del romero carece de toxicidad; sin embargo, las personas especialmente sensibles pueden experimentar reacciones alérgicas, especialmente dermatitis por contacto. Su aceite esencial, hay que usarlo con cuidado ya que está muy concentrado y puede ocasionar dermatitis, eritemas en la piel y reacciones de fotosensibilidad en personas especialmente sensibles y además, puede causar irritación renal. (11) (44)

1.7.9 FORMAS GALÉNICAS

- En infusión: 2-4 g de la droga al día.
- En extracto fluido: 30 gotas, 3 veces al día.
- En esencia: 3-4 gotas, 3 veces al día, en un terrón de azúcar.
- En extracto seco nebulizado: de 0.3 a 2 g al día. (11)
- Alcohol de romero. Se disuelven 10-20 g de esencia en un litro de alcohol de 96°.

- Aceite de romero. De uso externo, se prepara disolviendo 20 g de esencia de romero en un L de aceite de oliva. (33) (50)

1.8 FITOFÁRMACOS

La legislación brasileña define como medicamento fitoterapéutico “todo producto técnicamente obtenido y elaborado, usando exclusivamente materias primas activas vegetales, con finalidad profiláctica, curativa o para fines de diagnóstico con beneficio para el usuario. Se caracteriza por el conocimiento que se tiene sobre su eficacia y riesgos de su utilización, así como, por la reproducibilidad y calidad constante; se presentan como un producto final acabado, empacado y etiquetado”. (16)

Para la elaboración de medicamentos fitoterápicos se pueden emplear, principalmente:

- Drogas vegetales, que generalmente se presentarán troceadas o pulverizadas.
- Productos obtenidos por extracción.
- Principios activos purificados. (19)

1.8.1 COMPRIMIDOS

Constituyen una de las formas farmacéuticas más utilizadas. Se calcula que hoy en día, la mitad de los medicamentos son administrados bajo esta forma farmacéutica. (19)

Las ventajas que presentan esta forma farmacéutica es que permiten precisión en la dosificación, son de fácil empleo, permiten formular principios activos poco solubles y pueden ser fabricados en escala con la consecuente reducción de costos, durabilidad de las características físicas por períodos extensos de almacenamiento, excelente estabilidad física, química, farmacéutica y farmacológica y gran facilidad de manejo durante los procesos de envase-empaque y embalaje. (19) (14)

1.8.2 FORMULACIÓN

Estas formas farmacéuticas, además de principio activo, contienen un número variable de ingredientes inactivos, denominados excipientes.

La designación de estos ingredientes debe ser correcta, porque el conjunto de la formulación de los comprimidos puede afectar su biodisponibilidad, modificando sus características biofarmacéuticas; por tanto, es muy importante efectuar una adecuada selección de los excipientes durante los procesos de preformulación, con el fin de optimizar las características biofarmacéuticas de la forma farmacéutica.

Los materiales a emplear en una formulación de comprimidos deben poseer algunas características físicas que permitan obtener un producto óptimo:

- **Fluidez**, es decir, una óptima capacidad de transporte a través de la tolva alimentadora de las máquinas tableteadoras hacia el sistema matriz-punzones, en una forma uniforme y regulable.
- **Compresibilidad**, es decir, que mediante buenas cualidades cohesivas el granulado forme una masa y compacta durante el proceso de compresión.
- **Lubricación**, una excelente capacidad para impedir los problemas de adherencia de las partículas de granulado a las piezas mecánicas de los equipos y buena capacidad para impedir la fricción entre las partículas de granulado. (14)

Además del componente activo o terapéutico, los comprimidos contienen una cantidad de materiales inertes conocidos como aditivos o excipientes. Éstos pueden clasificarse de acuerdo con su papel en el comprimido terminado.

El primer grupo contiene aquellos materiales que contribuyen a impartir características de procesamiento y compresión satisfactorias a la formulación: diluyentes, aglutinantes, deslizantes y lubricantes.

El segundo grupo ayuda a brindar las características físicas deseadas a los comprimidos terminados. En éste grupo están los desintegrantes, los colorantes; en el caso de comprimidos masticables, los agentes saborizantes y edulcorantes, y en los comprimidos de liberación controlada, los polímeros o ceras, u otros materiales que retardan la disolución. (5)

a. Diluyentes

Con frecuencia, la dosis única del componente activo es pequeña y la sustancia inerte se agrega para aumentar el volumen, con el propósito de que el comprimido tenga un tamaño útil para la compresión.

Los diluyentes más utilizados son: fosfato dicálcico, sulfato de calcio, lactosa, celulosa, caolín, manitol, cloruro de sodio, almidón seco y azúcar en polvo. Ciertos diluyentes, como manitol, lactosa, sorbitol, sacarosa e inositol, cuando están presentes en cantidades suficientes, pueden impartir a algunos comprimidos compactados, propiedades que les permiten desintegrarse en la boca al masticarlos. Los diluyentes utilizados como excipientes para las fórmulas sometidas a compresión directa han sido sujetos a un proceso previo para darles fluidez y compresibilidad.

Si la droga es poco soluble en agua, se recomienda utilizar diluyentes que sean solubles, para evitar posibles problemas de biodisponibilidad. Las sustancias altamente adsorbentes, por ejemplo la bentonita y el caolín, deben evitarse en la elaboración de comprimidos con drogas utilizadas clínicamente en pequeñas dosis, como los glucósidos cardiotónicos, los alcaloides y los estrógenos sintéticos, ya que pueden ser adsorbidas después de la administración. La combinación de bases o sales aminas con lactosa en presencia de un lubricante alcalino da como resultado comprimidos que se decoloran con el tiempo. (5)

b. Aglutinantes

Otorgan a las formulaciones de los comprimidos una cohesividad que asegura que éstos permanezcan intactos después de la compresión, pero también mejoran las cualidades de libre flujo para las formulaciones de gránulos con la dureza y el tamaño deseado. (14)

Los aglutinantes son utilizados tanto en solución como en forma seca, dependiendo de los otros componentes de la formulación y el método de preparación.

Almidón. Se utiliza en estado de pasta de almidón, las concentraciones varían del 10 al 20%. Su uso es importante cuando el principio activo es insoluble y se encuentra en alta cantidad. (5) (14)

Solución de gelatina. Se utiliza en una solución al 10-20%; las soluciones de gelatina deben prepararse en forma fresca según la necesidad y deben utilizarse mientras estén tibias o puedan solidificar. (5)

Soluciones de celulosa. La hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) ha sido empleada ampliamente. La HPMC, es más soluble en agua fría que en agua caliente. (5)

c. Lubricantes

Se puede señalar 3 tipos de lubricantes de acuerdo a su actividad en la formulación:

- **Lubricantes propiamente dicho**, actúan para evitar la fricción entre las partículas del granulado, evitando que éste pierda sus características; también evitando la fuerte fricción entre las paredes internas de las matrices de la máquina tableteadora y el comprimido formado, permitiendo una fácil eliminación del comprimido hacia el exterior de la máquina; cuando hay pobre lubricación para esta etapa, los comprimidos pueden fracturarse o los punzones y las matrices pueden sufrir alteraciones en su estructura; una buena lubricación ayuda a una salida limpia del comprimido.

- **Anti-adherentes**, impiden que el granulado se adhiera a las paredes y superficies de los punzones y matrices; de esta manera ayudan a mantener la apariencia correcta de los comprimidos, con sus superficies externas lisas y brillantes.
- **Deslizadores**, ayudan a un flujo continuo del granulado desde la tolva alimentadora hacia las matrices de la máquina tableteadora, evitando variantes en el peso y la dureza de los comprimidos.

Es importante utilizar una mezcla balanceada de lubricantes para que se incorporen todas las funciones asignadas a los lubricantes; en la práctica, una adecuada mezcla de talco y estearatos metálicos, junto al almidón serían los materiales más convenientes.(14)

d. Desintegradores

Facilitan la ruptura o desintegración del comprimido cuando luego de su administración se pone en contacto con los fluidos orgánicos.

El desintegrador más utilizado es el almidón, su acción se debe a que tiene gran afinidad con el agua y por tanto al humedecerse, se hincha facilitando la ruptura del comprimido y la salida del principio activo. Otros agentes desintegradores constituyen los derivados celulósicos, como: carboximetil celulosa cálcica, croscarmellosa y Avicel. (14)

e. Colorantes y saborizantes

Los colorantes mejoran la apariencia estética de la forma farmacéutica. El color ayuda al fabricante a controlar el producto durante su preparación y también es de utilidad para el usuario como modo de identificación. La amplia diversidad en el uso de colorantes en las formas farmacéuticas sólidas posibilita que el color sea una categoría importante en el código de identificación desarrollado por la American Medical Association (AMA) para reconocer un comprimido en casos de envenenamiento. Los saborizantes ayudan a tener una mejor palatabilidad de los comprimidos, por lo tanto mayor aceptación. (14)

1.8.3 MÉTODOS DE FABRICACIÓN DE COMPRIMIDOS

a. Granulación Húmeda

El método más general y más ampliamente utilizado de preparación de comprimidos es el método de granulación húmeda. Su popularidad se debe a la mayor probabilidad de que la granulación pueda hallar en éste método todos los requerimientos físicos convenientes para la compresión de buenos comprimidos. (5)

Sus principales desventajas son la cantidad de pasos involucrados, así como el tiempo y el trabajo necesario para llevar a cabo el proceso, en especial a gran escala.

Los pasos en el método de granulación húmeda comprenden: pesado, mezcla, granulación, tamizado de la masa húmeda, secado, tamizado en seco, lubricación y compresión. (5)

- **El pesado** de las materias primas.
- **La mezcla** es el proceso de mezclado de un polvo en presencia de un líquido (solución aglutinante) para formar el gránulo. Este proceso disminuye el riesgo de segregación y producción de finos relacionada con la compresión de tabletas.
- **La granulación** ocurre por la formación de enlaces tipo puentes de hidrógeno entre las partículas primarias.
- **El tiempo de mezclado** depende del equipo y de las propiedades del polvo, en general puede ir desde 15 min a 1 h. En la práctica, el punto final se logra cuando al tomar una porción de la muestra con la mano y presionarla suavemente al abrir nuevamente la mano esta se resquebraje. Si se agrega demasiada solución aglutinante, se formará una masa que se apelmazará y taponará los tamices y que durante el secado formará agregados duros que habrá que moler.(48)

Ventajas

- Gran variedad de fármacos procesados por esta vía.
- Mejora la manipulación de sólidos pulverulentos.

- Permite la adición de algunos componentes líquidos.
- Uniformidad de contenido aceptable.
- Aumento en la cohesividad y compactibilidad de las partículas.
- Obtención de gránulos de tamaño y forma homogéneos.
- Favorece la disolución de fármacos hidrofóbicos.
- Permite liberación modificada. (49)

Desventajas

- Numerosas etapas en el proceso.
- Muchos equipos involucrados
- Alto consumo de tiempo y energía
- Costo elevado por consiguiente.
- No apto para fármacos sensibles al calor y humedad.
- Pocos disolventes para la solución aglutinante. (49)

b. Granulación Seca

Cuando los componentes de los comprimidos son sensibles a la humedad o incapaces de soportar temperaturas elevadas durante el secado, se puede utilizar el *slugging* para formar los gránulos. A este método se le denomina granulación seca, precompresión o doble compresión. Elimina varios pasos, aunque incluye pesado, mezclado, precompresión, tamizado en seco, lubricación y compresión.

Se mezclan el componente activo, el diluyente (si se requiere) y parte del lubricante. Uno de los componentes, el ingrediente activo o el diluyente deben tener propiedades cohesivas. El material en polvo contiene una cantidad de aire considerable; bajo presión este aire se expelle y se forma una pieza bastante densa. Cuanto más tiempo transcurra para que se escape el aire, mejor será el comprimido. (5)

c. Compresión Directa

Con el desarrollo tecnológico y los constantes estudios para encontrar mejores sustancias auxiliares para los procesos, se emplea actualmente el proceso de compresión directa para la preparación del granulado, después se añaden los lubricantes y desintegradores obteniendo la mezcla final para la compresión. Para este proceso, tanto el principio activo como los diluyentes deben tener excelentes cualidades cohesivas y fluyan fácilmente desde la tolva alimentadora. (14)

1.8.4 CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTO TERMINADO

a. Determinación de la humedad del granulado

Este control se lleva a cabo durante el proceso de manufactura.

b. Determinación de las propiedades físico-mecánicas y tecnológicas

Aspecto. El tamaño y la forma del comprimido determinan el tipo de empaque y de tableteadora a utilizar para optimizar los costos de producción. Debido a que las medidas de los punzones y las matrices son estándar, el diámetro y la forma tanto del punzón y la matriz respectivamente determinan la forma de los comprimidos. Las dimensiones físicas del material junto con la densidad de los materiales en la formulación de las tabletas determinarán su peso. (49)

El espesor de un comprimido se controla con cuidado de lote a lote. El espesor no sólo es importante para la reproducción de comprimidos idénticos en apariencia sino también para asegurarse de que cada lote de producción puede envasarse con determinados componentes. Puede admitirse una variación del 5% en más o menos, según el tamaño del comprimido. (5)

El color permite la identificación del comprimido y permite ver la uniformidad del lote. Esta prueba es subjetiva porque depende de la habilidad del observador. (31)

Aparte del color, el olor es un factor importante ya que cambios en él indican contaminación microbiana, especialmente cuando se utilizan excipientes como el almidón, celulosa, lactosa, gelatina, etc. (49)

Uniformidad de contenido. Este ensayo se realiza en el granulado como un método de validación del proceso de mezclado. (5)

El peso no puede utilizarse como indicador de potencia a menos que la cantidad de fármaco corresponda al 90-95% del peso total de las tabletas. Por tal razón, en las tabletas con pequeñas concentraciones del fármaco una buena variación de peso no asegura una buena uniformidad de contenido y viceversa. Para asegurar la potencia de las tabletas de bajas concentraciones del fármaco se lleva a cabo la prueba de contenido. La uniformidad de contenido depende de: la uniformidad del fármaco en la mezcla del granulado, segregación del polvo o granulado durante procesos de manufactura y variación del peso de las tabletas. (49)

Variación de peso. El llenado volumétrico de la cavidad matriz determina el peso del comprimido compactado. En el montaje de la máquina se ajusta el llenado para dar un comprimido con un peso deseado, que se conforma con la cantidad de la granulación que contiene el componente terapéutico que figura en el rótulo. El peso del comprimido se controla de manera periódica en forma manual o electrónica para asegurar que éste se mantenga en el rango adecuado durante el proceso. (5) (31)

Dureza. Las determinaciones de dureza (fuerza de aplastamiento) son realizadas a medida que el comprimidos para determinar la necesidad de correcciones sobre la presión en la máquina elaboradora de comprimidos. Si el comprimido es demasiado duro, puede no desintegrarse en el período de tiempo establecido o quizá no satisfaga las especificaciones de disolución; si es demasiado blando, no soportará la manipulación durante las sucesivas operaciones del proceso, como cobertura o envasado y transporte. (5) (31)

La resistencia a la presión se puede medir en:

- Kilogramos-fuerza (Kilopondios)
- Unidades Strong-Cobb
- Newton (5)

Un durómetro mide la fuerza requerida para fracturar la tableta al aplicar diametralmente en ella la fuerza generada por un resorte. (31)

Friabilidad. Permite evaluar la capacidad del comprimido para resistir el desgaste por rozamiento durante el envasado, la manipulación y transporte. Se acepta como máximo que la pérdida de peso no debe sobre pasar el 1%. (5) (31)

Desintegración. La prueba de desintegración in vitro no guarda necesariamente una relación con la acción in vivo de una forma farmacéutica sólida. Una droga debe estar en solución para ser absorbida y la prueba de desintegración es sólo una medida de tiempo necesario para bajo un conjunto de condiciones para que un grupo de comprimidos se desintegre en partículas. En general, esta prueba es útil como una herramienta para asegurar la calidad de formas farmacéuticas convencionales (de liberación no sostenida).

La prueba de desintegración se utiliza como un control de los comprimidos de administración oral, excepto cuando se los va a masticar antes de deglutirlos o cuando están diseñados para liberar la droga en un período de tiempo. Para la mayoría de los comprimidos no recubiertos, el período es de 30 min, suele ser agua a 37°C. (5)

CAPÍTULO II

2 PARTE EXPERIMENTAL

2.1 LUGAR DE REALIZACIÓN

La presente investigación se desarrolló en los Laboratorios de Farmacognosia, Fitoquímica, Análisis Instrumental y Bioterio de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH y en el Departamento de Control de Calidad y Producción del Laboratorio Neo-Fármaco Cía. Ltda. de la ciudad de Ambato.

2.2 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.2.1 MATERIAL VEGETAL

- Extracto de Alcachofa (*Cynara scolymus*)
- Extracto de Romero (*Rosmarinus officinalis*)

2.2.2 MATERIAL BIOLÓGICO

- Ratones (*Mus musculus*)

2.2.3 MATERIALES DE LABORATORIO

- Aspersor
- Balón aforado de 5 mL, 10 mL, 25 mL, 50 mL
- Balón esmerilado de 500 mL, 1000 mL, 2000 mL
- Cajas Petri
- Cápsulas de porcelana

- Embudo
- Embudo de separación de 100mL
- Gradilla
- Malla No. 6 y 14
- Papel aluminio
- Pera de succión
- Picnómetro de 10 mL
- Pinza de cápsula
- Pipetas volumétricas de 2mL, 10 mL
- Pipetas graduadas de 5 mL, 10 mL
- Sílica Gel
- Trípode
- Probetas de 10 mL, 25 mL, 50 mL, 100 mL
- Tubos de ensayo
- Varilla de agitación
- Vasos de precipitación de 10 mL, 50 mL, 100 mL, 150 mL, 250 mL, 600 mL

2.2.4 EQUIPOS

- Analizador de humedad (Mettler Toledo)
- Auto clave
- Balanza analítica (Sartorius)
- Balanza de precisión
- Cámara UV
- Desecador
- Desintegrador (Pharma Test)
- Durómetro manual (Mosanto)
- Estufa (Ecocell)
- Estufa bacteriológica
- Friabilizador (Schleuniger)
- Mufla (Furnace)
- Potenciómetro (Mettler Toledo)

- Refractómetro (Abbé)
- Refrigeradora
- Reverbero eléctrico
- Rotavapor
- Tableteadora (Fette)

2.2.5 REACTIVOS

- Acetona ($\text{CH}_3(\text{CO})\text{CH}_3$)
- Ácido Fórmico (H-COOH)
- Ácido Clorhídrico (HCl)
- Ácido Sulfúrico (H_2SO_4)
- Agar MacKonkey
- Agar para recuento en placa
- Agar Sabouraud
- Agua de peptona
- Agua destilada
- Agua de peptona
- Almidón de maíz
- Almidón sodio glicolato
- Caldo verde brillante bilis lactosa
- Cloroformo (CHCl_3)
- Cloruro férrico (FeCl_3)
- Etanol 70% ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$)
- Estearato de magnesio
- Lactosa monohidratada
- Metanol ($\text{CH}_3\text{-OH}$)
- PVP
- Reactivo de Baljet
- Reactivo de Fehling
- Reactivo de Liebermann-Buchard
- Reactivo de Rosenthaler

- Reactivo de Sudan III
- Starch 1500
- Talco farmacéutico
- Tolueno
- Vainilla

2.3 TÉCNICAS Y MÉTODOS

2.3.1 CONTROL DE CALIDAD DE MATERIA PRIMA

Contempla la revisión de parámetros definidos de la planta o parte de la planta con acción farmacológica, una vez que el material vegetal ha sido sometido a procesos de secamiento y estabilización. (11)

Para lo cual se realizan las siguientes pruebas:

2.3.2 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

Se realizó en el Analizador de Humedad Mettler Toledo. Se programó el equipo a una temperatura de 105°C, de la muestra pulverizada se pesó 1 ± 0.1 g en un plato de aluminio previamente tarado, la muestra se secó por un lapso de 1 a 2 min, hasta que el equipo se estabilice y se procedió a la lectura.

2.3.3 DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES

El material vegetal seco resultado de la determinación del contenido de humedad se colocó en un crisol de porcelana previamente tarado, se calcinó en un reverbero y en la sorbona hasta ausencia de humos. Luego se procedió a la incineración a una temperatura 500-550°C, hasta obtener cenizas libres de residuo carbonoso. Se enfría el crisol en el desecador y se pesa.

Cuantitativamente el tanto por ciento de cenizas totales se determinó aplicando la siguiente ecuación:

$$\% C_T = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m} * 100 \quad 1$$

donde: % C_T : porcentaje de cenizas totales
 m: masa de la cápsula tarada (g)
 m_1 : masa de la cápsula con la muestra antes de la incineración (g)
 m_2 : masa de la cápsula con la muestra después de la incineración (g)
 100: factor matemático para expresar el resultado en tanto por ciento (10)

2.3.4 DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA

A las cenizas totales se le añadieron de 15 a 20 mL de agua, se calentó suavemente en el reverbero durante 5 min. La materia insoluble se recogió en un papel filtro libre de cenizas determinadas o declaradas. El papel con el residuo se transfirió al crisol inicial, se carbonizó en un reverbero y luego se incineró en una mufla de 500-550°C, durante dos horas. Posteriormente se enfría en el desecador hasta temperatura ambiente y se pesa.

Cuantitativamente el tanto por ciento de cenizas solubles en agua se determinó aplicando la siguiente ecuación:

$$\% C_S = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m} * 100 \quad 2$$

donde: % C_S : porcentaje de cenizas solubles en agua
 m: masa de la cápsula tarada
 m_1 : masa de la cápsula con la muestra antes de la incineración
 m_2 : masa de la cápsula con la muestra después de la incineración
 100: factor matemático para expresar el resultado en tanto por ciento (10)

(12)

2.3.5 DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN HCl

A las cenizas totales se le añadieron de 15 a 20 mL de HCl 10%, se calentó en el reverbero durante 5 min. La solución se filtró a través de papel filtro libre de cenizas. Se lavó el residuo con agua caliente hasta que muestre negativo la prueba con AgNO₃ 0.1 N. El papel con el residuo se transfirió al crisol inicial, se carbonizó en un reverbero y luego se incineró en una mufla de 500-550°C, durante 2 h. Posteriormente se enfría en el desecador y se pesa.

Cuantitativamente el tanto por ciento de cenizas solubles en agua se determinó aplicando la siguiente ecuación:

$$\% C_1 = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m} * 100 \quad 3$$

donde: C₁: porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico
m: masa de la cápsula tarada
m₁: masa de la cápsula con la muestra antes de la incineración
m₂: masa de la cápsula con la muestra después de la incineración
100: factor matemático para expresar el resultado en tanto por ciento (10)
(12)

2.3.6 PREPARACIÓN DE EXTRACTOS

La preparación de los extractos consta de los siguientes pasos:

- En la materia prima se colocó alcohol al 70%, en una relación 1:1 (por cada g de planta 1 mL de alcohol).
- La maceración se realizó por 72 h.
- Se filtró el macerado.
- El extracto obtenido se destiló en rotavapor hasta la eliminación del solvente.

2.3.7 PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO

2.3.7.1 DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA

Para esta prueba se tomó una alícuota de 25 mL de extracto y se lo colocó en un vaso de precipitación de 50 mL. El análisis sensorial se basó en las pruebas que se detallan:

- **Aspecto:** Se determinó observando contra luz la presencia de partículas y/o turbidez en el tubo de ensayo donde se encuentra la muestra a ser analizada mediante visualización directa.
- **Color:** Líquido con coloración determinada por el tinte que presenta la muestra.
- **Olor:** Característico a las plantas.
- **Sabor:** Característico a las plantas y al solvente.

2.3.7.2 PARÁMETROS FÍSICOS

a. Determinación de pH. Se midió directamente en el equipo de pH previamente calibrado, una alícuota de 25 mL.

b. Determinación del índice de refracción. Se procedió a medir directamente la muestra en el refractómetro (Abbé). El índice de refracción se calcula a través de la siguiente ecuación:

$$\eta_d^{25} = \eta_d^t + 0.000044(T - 25) \quad 4$$

donde: η_d^{25} : índice de refracción corregido a 25°C

η_d^t : índice de refracción determinado

0.00044: factor de corrección matemático

25: factor de corrección matemático

T: temperatura a la que se realiza la lectura

c. Determinación de la densidad relativa. Se determinó mediante la utilización de un picnómetro. La densidad relativa a 25°C se calcula con la siguiente fórmula:

$$D_{25} = \frac{m_1 - m}{m_2 - m} \quad 5$$

donde: m_1 : peso del picnómetro con la muestra (g)

m_2 : peso del picnómetro con agua (g)

m : peso del picnómetro vacío (g)

d. Determinación de sólidos totales. En una cápsula previamente tarada se colocó 2 mL de muestra y se llevó a baño María, la evaporación completa se realizó en la estufa a 105°C por 3 h, se pesó la cápsula, repetir el procedimiento hasta peso constante con intervalos de 30 min. Los resultados se expresan en porcentaje de sólidos totales y se reportan en cifras enteras, según la fórmula:

$$S_T = \frac{P_r - P}{V} * 100 \quad 6$$

donde: P_r : masa de la cápsula más el residuo (g)

P : masa de la cápsula vacía (g)

V : volumen de la porción del ensayo

100: factor matemático para la relación a un resultado en tanto por ciento

2.3.7.3 DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS CONTAMINANTES EN EL EXTRACTO (SE APLICA LA MISMA TÉCNICA PARA LOS COMPRIMIDOS)

a. Método de conteo de Aerobios Mesófilos Totales en placa

- Colocar 10 mL de extracto en un erlenmeyer estéril
- Agregar 90 mL de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar; de este modo se obtiene una dilución de 10^{-1} .
- Dejar reposar por 1 h.

- De esta dilución, tomar 1 mL y mezclar con 9 mL de agua peptonada 0.1% y obtener una dilución 10^{-2} . De este modo realizar otras diluciones
- Ir pipeteando por duplicado en placas Petri estériles, alícuotas de 1mL de las diluciones escogidas para la siembra.
- Inmediatamente, verter en cada una de las placas inoculadas aproximadamente 20 cm^3 de agar para recuento de placa (PCA) fundido y templado a $45\pm 2^\circ\text{C}$.
- Mezclar el inóculo con el medio fundido con movimientos de vaivén.
- Luego de solidificado el agar invertir las placas e incubar a $35\pm 2^\circ\text{C}$ por 48 h.
- Transcurrido este tiempo, realizar la lectura. (4)

b. Determinación de Coliformes Totales

- Colocar 10 mL de extracto en un erlenmeyer estéril.
- Agregar 90 mL de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar. De este modo se obtiene una dilución 10^{-1} .
- Dejar reposar 1 h.
- De esta dilución, tomar 1 mL y mezclar con 9 mL de agua peptonada 0.1% y obtener una dilución de 10^{-2}
- Inmediatamente después de realizadas las diluciones, transferir 1 mL de la dilución 10^{-1} a cada uno de los tres tubos que contengan 10 mL de caldo Presencia-Ausencia o similar.
- Con otra pipeta estéril, transferir 1 mL de la dilución 10^{-2} en cada uno de los tres tubos que contengan 10 mL de medio. Proceder de igual manera con otras diluciones.
- Incubar por 24-48 h a $35\pm 2^\circ\text{C}$.
- Transcurridos el tiempo anotar en cada dilución como presuntos positivos todos los tubos que presenten crecimiento con producción suficiente de gas como para llenar el fondo cóncavo del tubo Durhan.
- Agitar cada uno de los tubos presuntamente positivos y con una asa de inoculación a partir de cada uno de ellos sembrar por estría en la superficie de placas individuales secas de Agar MacKonkey, identificar las placas. Si al término del período de incubación hay desarrollado de colonias lactosa positivas, confirman la presencia de coliformes.

- Los resultados se interpretaron según la tabla Número Más Probable (NMP). (4)

Para coliformes totales:	0-100 NMP/mL	ACEPTABLE
	100-460 NMP/mL	REGULAR ACEPTABLE
	>460 NMP/mL	INACEPTABLE/RECHAZADO
Para coliformes fecales:	< de 10 NMP/mL	ACEPTABLE
	>de 10 NMP/mL	RECHAZADO

c. Determinación de Coliformes Fecales

- Simultáneamente con el ensayo confirmatorio para coliformes totales inocular dos o tres asas de cada uno de los tubos presuntamente positivos en un tubo conteniendo 10 mL de caldo verde brillante bilis lactosa y en otro que contenga aproximadamente 3 mL de caldo triptona, procede de igual forma que en la prueba para Coliformes totales.
- Incubar estos tubos a 45.5°C (baño María) por 48 h.
- Al cabo de este tiempo anotar la presencia de gas en los tubos BGBL y añadir 2 o 3 gotas del reactivo de Kovacs a los tubos de agua triptona. La reacción es positiva para el indol si en cinco minutos se forma un anillo rojo en la superficie de la capa de alcohol amílico: en la prueba negativa el reactivo de Kovacs conserva el color original.
- Los cultivos gas positivos en caldo BGBL inoculados a 35°C y a 45.5°C y que produce indol a 45.5°C son considerados coliformes fecales positivos.
- Los resultados se interpretaron según la tabla de NMP. (4)

d. Método de conteo de Mohos y Levaduras en placa

- Preparar cajas Petri con Agar Saboraud modificado.
 - Añadir a cada placa Petri 20 mL de agar Saboraud modificado fundido y enfriado a 45-50°C al que se le ha adicionado previamente el volumen necesario de la solución stock de cloranfenicol para obtener una concentración final de 40 ppm.

- Solución stock de cloranfenicol: disuelva 1 g de antibiótico (Succinato de Cloranfenicol) en 100 mL de agua destilada estéril, filtre a través de una membrana de 0.45 μm .
- Colocar 10 mL de extracto en un erlenmeyer estéril.
- Agregar 90 mL de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar; de este modo se obtiene una dilución de 10^{-1} .
- De esta dilución, tomar 1 mL y mezclar con 9 mL de agua peptonada 0.1% y obtener una dilución de 10^{-2} .
- Sobre las cajas Petri colocar 0.1 mL de las diluciones respectivas y extender mediante un tensor 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 10 Colonias/caja. (4)

e. Método de conteo de *Pseudomonas* en placa

- Colocar 10 mL de extracto en un erlenmeyer estéril
- Agregar 90 mL de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar; de este modo se obtiene una dilución de 10^{-1} .
- Preparar cajas Petri con medio de cultivo cetrimida.
- Sobre las cajas Petri colocar 0.1 mL de las diluciones respectivas y extender con el asa.
- Invertirlas placas e incubar a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 48 h.
- Transcurrido este tiempo, realizar la lectura.

f. Método de recuento de *S. aureus* en placa

- Preparar con anticipación las placas de agar Baird Parker y secar su superficie.
 - Agar Baird Parker base
 - Emulsión de yema de huevo 20% (50 mL/L de medio) preparada así: lavar un huevo, sumergirlo durante 1 h en alcohol de 70° , pesar la yema en un erlenmeyer

estéril, éste peso multiplicar por 4, el resultado es el volumen de agua destilada estéril que se debe adicionar al erlenmeyer para formar la emulsión.

- Solución de telurito de potasio al 3.5% (3 mL/L).
- Esterilizar el agar base, enfriar a 45°C y adicionar la emulsión de yema de huevo y el telurito de potasio, colocar en las cajas Petri.
- Colocar 10 mL de extracto en un erlenmeyer estéril
- Agregar 90 mL de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar; de este modo se obtiene una dilución de 10^{-1} .
- Sobre las cajas Petri colocar 0.1 mL de las diluciones respectivas y extender con el asa.
- Incubar en posición invertida a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$, durante 36 ± 2 h.
- Observar la morfología de las colonias, señalar las que presentan morfología típica.
- Escoger las placas que presenten 20-200 UFC.
- Realizar los cálculos. (4)

g. Determinación de *Salmonella*

Preenriquecimiento en medios líquidos no selectivos

- Colocar 10 mL de extracto en un erlenmeyer estéril
- Agregar 90 mL de agua peptonada al 0.1% estéril, mezclar bien e inocular a 37°C durante 16-20 h.

Enriquecimiento en medios líquidos selectivos

- 10 mL de cultivo de preenriquecimiento se siembra en 100 mL de caldo tetrionato bilis verde brillante (Muller-Kauffman), se incuba a 42-43°C durante 18-24 h.
- 10 mL de cultivo de preenriquecimiento se transfiere a 100 mL de caldo selenito cistina, se incuba a 37°C durante 18-24 h.

Aislamiento en medios sólidos selectivos

- De cada uno de los caldos de enriquecimiento se siembra por duplicado y sin recargar el asa en la segunda placa, por lo menos en 2 de los siguientes medios:
 - Agar verde brillante rojo fenol (BGA)
 - Agar xilosa, lisina, desoxicolato (XLD)
 - Agar sulfito bismuto (SB)

- En BGA las colonias de *Salmonella*, que no fermentan lactosa son rosadas, transparentes, rodeadas de un halo rojo, las fermentadoras de lactosa forman colonias amarillo-verdosas al virar el rojo fenol del medio por producción de ácido.
- En XLD las colonias de *Salmonella* son rojas, con centro negros, o negras debido a un cambio de pH por fermentación de la xilosa y descarboxilación de la lisina, el ennegrecimiento se debe a la producción de H₂S.
- En agar sulfito bismuto las colonias de *Salmonella* son negras con brillo metálico, por la reducción de iones bismuto que se transforman en iones bismuto metálico. A veces, las colonias son marrones, grises o verdes. (4)

2.3.7.4 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO

a. Ensayo de Sudan III

Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos grasos, para ello, cuando un extracto etéreo se evapora a sequedad en presencia de una solución Sudan III al 6% en glicerina-agua (1:1).

La presencia de compuestos grasos se considera positiva si aparecen gotas o una película coloreada de rojo en el seno del líquido o en las paredes del tubo de ensayo respectivamente.

b. Ensayo de Baljet

Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular cumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar positivo al ensayo.

Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en 1mL de alcohol.

En estas condiciones se adicional 1 mL del reactivo, considerándose un ensayo positivo la aparición de coloración o precipitado rojo (++ y +++) respectivamente.

c. 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%. 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 (+++).

d. Ensayo de Lieberman–Burchard

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

Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño María 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 H₂SO₄ 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 esos 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 Lieberman-Buchard es también utilizada para diferenciar las estructuras esteroidales de los triterpenoides, las primeras producen coloraciones azul o azul verdoso, mientras que en las segundas se observa rojo, rosado o púrpura. Estas coloraciones pueden variar por interferencias producidas por carotenos, xantofilas y esteroides saturados que pueden estar presentes.

e. Ensayo de Resinas

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

f. 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 adiciona 2 mL del reactivo y se calienta en baño de agua 5-10 min la mezcla.

El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece 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 de ellas justo en el momento de realizar en ensayo. Dicha mezcla es la que se adiciona a la alícuota a evaluar.

g. Ensayo de Espuma

Para reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esteroidal como triterpénica. De modo que si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces el volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 min. El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 min.

h. 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.

i. Ensayo de Shidona

Permite reconocer la presencia de flavonoides. 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 min, 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; intenso en todos los casos.

j. Ensayo de Mucílagos

Permite reconocer en los extractos de vegetales la presencia de esta estructura de tipo polisacárido, que forma un coloide hidrófilo de alto índice de masa que aumenta la densidad del agua donde se extrae. Para ello una alícuota del extracto en agua se enfría a 0-5°C, si la solución toma una consistencia gelatinosa el ensayo es positivo.

k. Ensayo de Principios Amargos

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.

l. Ensayo de Rosenthaler

Permite conocer la presencia de sapogeninas esteroidales y triterpenoidales. Al extracto se le agrega 1 mL de una solución etanólica de vainillina 1% más 1 gota de HCl concentrado. El ensayo es positivo cuando aparece una coloración diferente al extracto. (9)

2.3.8 CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXCIPIENTES

CUADRO No. 1 LISTA DE EXCIPIENTES UTILIZADOS PARA LA ELABORACIÓN DE COMPRIMIDOS FITOFARMACÉUTICOS

EXCIPIENTES	ADQUISICIÓN	PROVEEDOR
Almidón de maíz	Lab. NEO-FÁRMACO	QUIBECO
Lactosa monohidratada	Lab. NEO-FÁRMACO	RESIQUIM S.A.
Starch 1500	Lab. NEO-FÁRMACO	RESIQUIM S.A.
Polivinilpirrolidona K30	Lab. NEO-FÁRMACO	QUIBECO
Estearato de magnesio	Lab. NEO-FÁRMACO	RESIQUIM S.A.
Talco	Lab. NEO-FÁRMACO	QUIBECO
Almidón glicolato sódico	Lab. NEO-FÁRMACO	QUIFATEX

Los certificados de análisis de cada materia prima se encuentran en el anexo No. 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7.

2.3.8.1 DETERMINACIÓN DE LAS CANTIDADES Y TIPOS DE EXCIPIENTES PARA LA FORMULACIÓN

Los excipientes son los componentes que acompañan al principio activo permitiéndole tomar una forma farmacéutica. Dentro estos deben estar: el diluyente, aglutinante, lubricante y desintegrante, también pueden estar presentes un colorante y saborizante, que se utiliza en principios activos con sabor amargo o desagradable.

a. Determinación de la Fórmula Unitaria

CUADRO No. 2 EXCIPIENTES UTILIZADOS PARA LA ELABORACIÓN DE COMPRIMIDOS FITOFARMACÉUTICOS.

Materia prima	Función	F. U. (mg)	F. M. (g)	%
Extracto de alcachofa	Principio activo	17	43	4.3
Extracto de romero	Principio activo	25	63	6.2
Almidón de maíz	Diluyente	120	300	30
Lactosa monohidratada	Diluyente	100	250	25
Starch 1500	Diluyente	28	70	7
PVP K30	Agglutinante	20	50	5
Estearato de magnesio	Lubricante	8	20	2
Talco	Lubricante	4	10	1
Almidón glicolato sódico	Desintegrante	78	194	19.5

Peso total del comprimido 400mg

b. Lote de Fabricación

Tamaño: 1 kg

Peso: 400 mg

Unidades: 2500 comprimidos

c. Procedimiento de Manufactura

Método de manufactura: Granulación húmeda

- Pesar y medir todas las materias primas para la formulación del lote.
- Mezclar las materias primas intragranulares: almidón, lactosa, starch 1500 y tamizar la mezcla por una malla No. 14.
- Disolver el PVP en agua y calentar hasta obtener una solución libre de grumos.
- Añadir el PVP y los extractos vegetales a la mezcla inicial hasta obtener una masa homogénea.
- Tamizar la masa por una malla No. 14. Verificar que se obtenga un buen granulado (no debe ser muy compacto).
- Colocar el granulado en papel krap y este en una bandeja de aluminio.
- Secar el granulado en el horno a una temperatura de 45°C. (H: 2-1%)
- Tamizar el granulado por una malla No. 6.
- Mezclar con las materias primas extragranulares: estearato de magnesio, talco y almidón glicolato.
- Mezclar por 30 min.
- Tabletear el granulado con punzón redondo plano de 10 mm y con un peso de 400 mg.
- Controlar el peso medio, dureza, desintegración y friabilidad.
- Tomar muestras para análisis de Control de Calidad en el producto terminado.

2.3.9 CONTROL DE CALIDAD DE LOS COMPRIMIDOS

Humedad del granulado. Realizado en el Analizador de Humedad Mettlet Toledo. Se programa el equipo a una temperatura de 105°C, procede a tarar el plato de aluminio y se pesa 1 ± 0.1 g del granulado en el mismo, dejar que la muestra se seque por un lapso de 1-2 min, hasta que se estabilice y se procede a la lectura. Este proceso se realiza antes de la compresión.

Aspecto. Colocar mínimo 10 comprimidos sobre un papel blanco, en un sitio bien iluminado, bordes regulares, color homogéneo y ausencia de manchas. (5) (12)

Dimensiones. A los mismos 10 comprimidos medir con el calibrador, el diámetro y espesor de cada comprimido en milímetros. Calcular los promedios. (5) (12)

Variación de peso. Tomar 20 comprimidos al azar de la muestra a analizar: 18 comprimidos deben estar dentro del peso promedio y el peso de los 2 comprimidos restantes puede estar dentro del doble del % de variación de peso. (5) (12)

Dureza. Seleccionar mínimo 5 comprimidos y medir la dureza con el durómetro. (5) (12)

Friabilidad. Pesar colectivamente dos grupos de 5 comprimidos (PESO INICIAL, PI), colocarlas dentro de los compartimientos tanto derecho como izquierdo del aparato de friabilidad y encender. Esperar que complete el ciclo (25 rpm por 4 min), limpiar cada comprimido con una brocha y pesarlas colectivamente diferenciando el grupo izquierdo y derecho (PESO FINAL). Determinar la pérdida de peso por fricción. (5) (12)

Desintegración. Colocar un comprimido en cada uno de los compartimientos de la canastilla, introducir en el baño de agua a 37°C y simultáneamente encender el equipo. Controlar el tiempo con un cronómetro, observar cuidadosamente hasta el momento en el cual la desintegración de los comprimidos sea total: apagar el equipo y anotar el tiempo. Determinar el tiempo en min y comparar con las especificaciones.(5) (12)

2.3.9.1 IDENTIFICACIÓN DEL MARCADOR QUÍMICO

El marcador químico está indicado por las reacciones de colorimétricas o de identificación, en el presente caso dado por Baljet y Shinoda, es decir sesquiterpeno lactonas y ácidos clorogénico y rosmarínico.

Para verificar las reacciones colorimétricas se realiza la cromatografía de capa fina para sesquiterpeno lactonas, como la cinaropicrina; y para derivados fenólicos, como el ácido rosmarínico.

Los marcadores químicos establecidos en la materia prima se analizan en los comprimidos con la misma tecnología.

a. Cromatografía en capa fina

Preparación de la muestra de los extractos vegetales:

Según Wagner pesar 1g del vegetal añadir 10 mL de etanol macerar por 72 h o refluja por 2 h, dejar en reposo hasta enfriamiento, filtrar, el filtrado concentrar hasta 1 mL, tomar un volumen de 20 µL y aplicar en placas de sílica gel G_{F254}. Correr en el solvente indicado para cada caso. Revelar con el revelador indicado.

Preparación de la muestra de los comprimidos fitofarmacéuticos

- Triture 250 comprimidos farmacéuticos (100 g de comprimido).
- Colocar en un vaso de 500 mL, añadir 100 mL de metanol caliente (< 40°C) y macerar por 12 h, realizar 2 ó 3 extracciones.
- El sobrenadante concentrar a ¼ de su volumen.
- Se aplica 10 µL del concentrado en una placa cromatográfica de sílica gel G_{F254} con la ayuda de un capilar.
- Saturar la cuba cromatográfica con el solvente de corrido.
- Se introduce la placa en la cuba cromatográfica hasta que el solvente recorra a 1 cm del borde superior de la placa.

- Retirar la placa, dejar secar y observar en la lámpara UV 365 nm.
- Revelar la placa, calentar en la estufa y anotar los Rf.

Adsorbente: Sílica gel 60 G_{F254} (Merck)

Sistema de solventes para la detección de terpenos: Cloroformo – acetona (60:40).

Sistema de solventes para la detección de flavonoides: Tolueno-formiato de etilo-ácido fórmico (50:40:10)

Revelador: Ácido sulfúrico-vainillina

Para realizar la determinación del Rf se aplica la siguiente fórmula:

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida de la muestra}}{\text{Distancia recorrida del solvente}} \quad 7$$

donde: Rf: Factor de retención.

2.3.9.2 VALORACIÓN

- Triture 250 comprimidos farmacéuticos (100 g de comprimido).
- Colocar en un vaso de 500 mL, añadir 100 mL de metanol caliente (< 40°C) y macerar por 12 h, realizar 2 ó 3 extracciones.
- Evaporar el solvente para determinar el extracto.
- Reconstituir con 100 de metanol.
- Realizar las diluciones respectivas para leer en el espectrofotómetro:

Alcachofa (*Cynara scolymus*)

- Principio activo: cinaropicrina
- Leer las muestras a λ 231 nm

CUADRO No. 3 ABSORBANCIA DE LAS MUESTRAS DEL EXTRACTO DE ALCACHOFA A DIFERENTES DILUCIONES

Muestra	Volumen	Absorbancia
642.8 g	5 mL	3.253
51.424 g	2 mL/ 5 mL	1.834
20.5696 g	2 mL/ 5 mL	0.743
8.2278 g	2 mL/ 5 mL	0.324

Romero (*Rosmarinus officinalis*)

- Principio activo: Ácido rosmarínico
- Leer las muestra a λ 225

CUADRO No. 4 ABSORBANCIA DE LAS MUESTRAS DEL EXTRACTO DE ROMERO A DIFERENTES DILUCIONES

Muestra	Volumen	Absorbancia
972.9 g	5 mL	1.735
77.832 g	2 mL/ 5 mL	0.962
31.1328 g	2 mL/ 5 mL	0.577
12.43 g	2 mL/ 5 mL	0.466

2.3.9.3 ENSAYOS FARMACOLÓGICO Y TOXICOLÓGICO DE LOS COMPRIMIDOS

El ensayo se realizó con la finalidad de evidenciar las propiedades farmacológicas que tienen los comprimidos como adelgazante debido a los usos etnomedicinales que le confieren a la alcachofa y el romero como coleréticos, es decir, ayudan al metabolismo de los lípidos y de esta manera se disminuye su absorción.

Se aisló los ratones en cajas separadas con 3 lotes de ratones identificándoles por su peso. Para comprobar el efecto farmacológico se procedió a administrar por vía oral los extractos reconstituidos en alcohol al 5% en dosis de 4, 7 y 10 %, respectivamente para dosis alta, media y baja, con una administración diaria.

La evaluación consistió en pesar diariamente a cada uno de los ratones para verificar la variación de peso de los mismos.

Para determinar la pérdida de peso se aplica la siguiente fórmula:

$$\% \text{Pérdida de peso} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso inicial}} \quad 8$$

El análisis toxicológico se realizó al lote de la dosis alta doblando la concentración de los extractos reconstituidos, durante 15 días a continuación del tratamiento adelgazante y se le evaluó el resultado por los signos presentados durante toda la investigación mediante los siguientes parámetros:

- Actividad general
- Grito
- Irritabilidad
- Respuesta al toque
- Huida
- Patas posteriores
- Enderezamiento
- Convulsiones
- Lagrimación
- Micción
- Hipotermia

CAPÍTULO III

3 RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1 CONTROL DE CALIDAD DE LA ESPECIE VEGETAL

CUADRO No. 5 RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE HUMEDAD, CENIZAS TOTALES, INSOLUBLES EN HCl Y AGUA EN LAS PLANTAS PULVERIZADAS DE ALCACHOFA (*Cynara scolymus*) Y ROMERO (*Rosmarinus officinalis*). REALIZADO EN EL DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL LABORATORIO NEO-FÁRMACIA. LTDA. AMBATO. NOVIEMBRE 2012.

ESPECIE VEGETAL	PRUEBAS							
	Contenido de humedad		Cenizas totales		Cenizas insolubles en HCl		Cenizas solubles en H ₂ O	
	Esp. (*)	H. (**)	Esp.	C _T	Esp.	C _I	Esp.	C _S
Alcachofa	10%	9.5%	6%	5.616%	2%	0.381%	3%	2.954%
Romero	10%	7.0%	6%	5.836%	2%	0.643%	3%	0.628%

(*) Especificaciones

(**) Humedad

De acuerdo a los valores presentes en el cuadro No. 5, se realizan las siguientes observaciones:

Se obtuvo un 9.5% para la alcachofa y 7.0% para el romero en contenido de humedad, son valores que están dentro de las especificaciones de la Norma Ecuatoriana de Fitoterápicos, Farmacopea Británica y Brasileña que de hasta 10%, estos valores son bajos porque las plantas fueron previamente secadas, de esta manera se interrumpe los procesos enzimáticos en las células vegetales e impide el crecimiento de los microorganismos y pérdida del potencial farmacológico.

El porcentaje de cenizas totales de las especies vegetales nos indican el contenido de minerales en la muestra, por lo que al observar los resultados del cuadro No. 5 para la alcachofa 5.614% y el romero 5.836%, tenemos valores dentro de los límites establecidos por la Farmacopea Brasileña y Británica.

Los resultados de cenizas insolubles en ácido para la alcachofa fueron de 0.381% y para el romero 0.643%, siendo el valor máximo permisible 2%, lo que nos indica que la muestra no están contaminadas con arena y minerales, cumpliendo las especificaciones por la Farmacopea Brasileña y Británica.

La alcachofa presentó 2.954% de cenizas solubles en agua y el romero 0.628%, siendo el valor máximo 3%, encontrándose dentro los límites establecidos por la Farmacopea Brasileña y Británica, indicando que las muestras no se encuentran contaminados con material de tipo orgánico.

3.2 DETERMINACION DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD DEL EXTRACTO

Con los valores del cuadro No. 6, se realizan las siguientes observaciones:

Las características organolépticas de los extractos no tienen estándares de referencia con los que se pueda comparar, debido a que los extractos tienen sus propios valores y características dependiendo de la especie analizada. Para realizar esta determinación nos basamos en los órganos de los sentidos.

Los parámetros físicos de los extractos de alcachofa y romero, demuestran que son de naturaleza ácida, índice de refracción que se relaciona con las sustancias solubilizadas en el extracto y la cantidad de extracto seco en sólidos totales.

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

De acuerdo al estudio fitoquímico se determinó la presencia de los siguientes metabolitos secundarios:

CUADRO No. 6 RESULTADOS DE LAS DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA, PARÁMETROS FÍSICOS, TAMIZAJE FITOQUÍMICO Y ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LOS EXTRACTOS DE ALCACHOFA (*Cynara scolymus*) Y ROMERO (*Rosmarinus officinalis*). REALIZADO EN EL DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL LABORATORIO NEOFÁRMACO CIA. LTDA. AMBATO. NOVIEMBRE 2012.

		ALCACHOFA	ROMERO	
CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS	Color	Verde	Verde	
	Olor	Característico	Aromático característico	
	Sabor	Amargo	Característico	
	Aspecto	Ligeramente turbio	Ligeramente turbio	
PARÁMETROS FÍSICOS	pH	5.83	5.93	
	Índice de refracción	1.383	1.331	
	Densidad relativa	0.867	0.842	
	Sólidos totales	4.3%	6.3%	
TAMIZAJE FITOQUÍMICO	METABOLITOS	ENSAYOS		
	Triterpenos y/o esteroides	Lieberman-Buchard	-	-
	Sesquiterpeno/Lactonas	Baljet	+++	+++
	Compuestos fenólicos y/o taninos	Cloruro férrico	++	++
	Saponinas	Espuma	++	+++
	Sapogeninas esteroidales y triptenoidales	Rosenthaler	++	+++
	Lípidos y/o aceites esenciales	Sudan III	+	+++
	Azúcares reductores	Fehling	+	+
	Principios amargos		+++	+
	Mucílagos		+	++
	Resinas		++	+++
	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	PARÁMETRO	LÍMITES	
Aerobios totales		<100 UFC/g	AUSENCIA	AUSENCIA
Mohos y levaduras		< 10 UFC/g	AUSENCIA	AUSENCIA
Coliformes totales		NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Coliformes fecales	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	

<i>Salmonella</i>	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA
<i>Pseudomonas</i>	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA
<i>S. aureus</i>	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA

VALORACION CUALITATIVA DEL EXTRACTO: (-) negativo, (+) baja evidencia, (++) evidencia, (+++) alta evidencia

En la alcachofa y el romero los ensayos positivos fueron: Shinoda, Baljet, Cloruro férrico, Espuma, Rosenthaler, Sudan III, Fehling, principios amargos, Mucílagos y resinas lo que indica que el material vegetal tiene, flavonoides, sesquiterpeno lactonas, compuestos fenólicos, saponinas, saponinas esteroidales y terpenoidales, lípidos y aceites esenciales, azúcares reductores, principios amargos, mucílagos y resinas, con excepción del ensayo de Borntrager que dio positivo sólo para el romero indicando la presencia de quinonas.

Los resultados del cuadro No. 6, nos demuestra que los extractos pueden ser utilizados como materia prima para la elaboración de fitofármacos, porque están dentro de los límites establecidos por la Farmacopea Brasileña y Británica, de esta manera se evita problemas posteriores en el producto final.

3.3 CONTROL DE CALIDAD DEL PROCESO DE FABRICACIÓN DE LOS COMPRIMIDOS

Observando los valores en el cuadro No. 7, se realizan las observaciones siguientes:

Durante el proceso de manufactura se realizó la determinación de humedad del granulado, que es de 1.9% valor que está dentro del rango aceptado 1-2%.

Mediante el análisis sensorial de los comprimidos, se observó las siguientes características: forma redondo, biconvexo, con superficie lisa, color ligeramente amarillo, olor aromático, característico del romero y sabor amargo debido a los principios amargos de la alcachofa.

Los resultados del análisis geométrico de los comprimidos nos indica que el diámetro del comprimido es 10.26 mm y su espesor es 5.07 mm que fueron medidos con el calibrador Pie de Rey.

La variación de peso de los comprimidos es de 401.4 mg, están dentro de los rangos especificados, límite superior (+5%) 420 mg y límite inferior (-5%) 380 mg.

La dureza de los comprimidos fue 10.12 kgf, valor que se encuentra dentro de las especificaciones de 8-12 kgf, con la cual soporta el choque mecánico por la manipulación durante su fabricación, empaque, distribución y uso.

El valor de desintegración de los comprimidos en promedio es 6.04 min, está dentro de las especificaciones establecidas máximo de 30 min, por lo que se puede deducir que la calidad y cantidad de aglutinante y desintegrante utilizado en la formulación es adecuado, de esta manera se garantiza la liberación del principio activo para su absorción en el organismo.

CUADRO No. 7 DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD DEL GRANULADO PARA LOS COMPRIMIDOS. REALIZADO EN EL DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL LABORATORIO NEO-FÁRMACO CÍA. LTDA. AMBATO. ENERO 2013

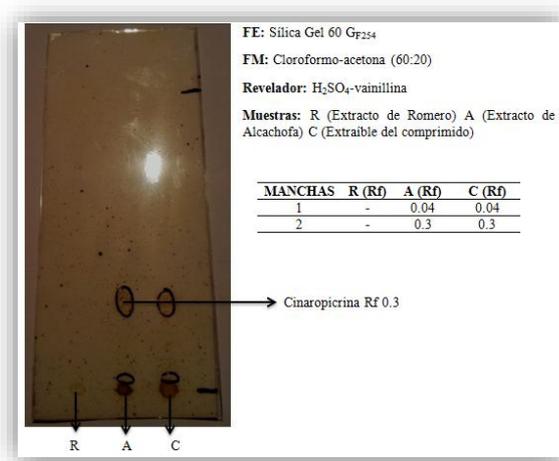
PARÁMETROS		RESULTADOS		
Aspecto	Comprimido	Redondo, liso, ligeramente amarillento, aromático		
	ESPECIFICACIONES	PROMEDIO	S	%CV
Humedad (%)	1.899 – 1.923	1.908	0.012	0.685
Espesor (mm)	5.0 – 5.1	5.07	0.048	0.950
Diámetro (mm)	10.2 – 10.4	10.26	0.070	0.682
Peso (mg)	Límite superior 420 (+5.0%) Límite inferior 380 (-5.0%)	401.4		
Dureza (kgf)	0 – 12	10.12	0.063	0.623
Desintegración (min)	30	6.04	0.071	1.175
Friabilidad	1%	0.16		
ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	PARÁMETRO	LÍMITES	COMPRIMIDOS 400 mg	
	Aerobios totales	< 100 UFC/g	AUSENCIA	
	Mohos y levaduras	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	
	Coliformes totales	NEGATIVO	NEGATIVO	
	Coliformes fecales	NEGATIVO	NEGATIVO	
	<i>Salmonella</i>	AUSENCIA	AUSENCIA	
	<i>Pseudomonas</i>	AUSENCIA	AUSENCIA	
	<i>S. aureus</i>	AUSENCIA	AUSENCIA	

Los resultados del ensayo de friabilidad mediante método de desgaste por rotación, en promedio es de 0.16%, resultado que garantiza que el comprimido tendrá una buena resistencia al desgaste por golpes y abrasión durante el proceso de envasado, almacenamiento y transporte. Según la USP dice que el peso máximo perdido es no mayor al 1%.

Los valores obtenidos determinan que el comprimido posee una contaminación microbiológica aceptable, pues se encuentra dentro de los límites permitidos, garantizando que los procesos de manufactura se realizaron asépticamente.

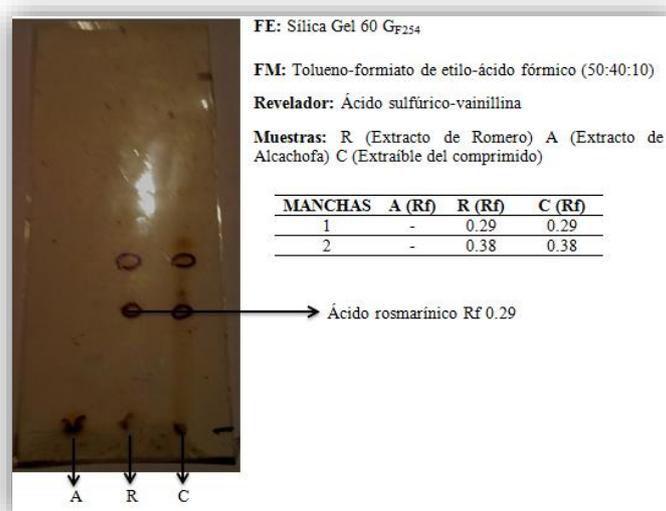
3.4 IDENTIFICACIÓN DEL MARCADOR QUÍMICO

3.4.1 CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA PARA DETECCIÓN DE TERPENOS



FOTOGRAFÍA No. 3 PLACA CROMATOGRÁFICA DEL EXTRACTO DE ALCACHOFA (*Cynara scolymus*)

En la fotografía se observa la presencia de zonas color naranja revelado del extracto de alcachofa como del comprimido extraído del metanol. En el extracto de alcachofa como en los comprimidos extraídos con metanol tienen la presencia de manchas de color naranja con un Rf 0.30, el mismo que pertenece a la cinaropicrina, según la referencia bibliográfica tomada de WAGNER, H. 1996. Plant Drug Analysis. 2a. ed. Berlín: Springer. Pp. 97.



FOTOGRAFÍA No. 4 PLACA CROMATOGRÁFICA DEL EXTRACTO DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*)

En la fotografía se observa la presencia de una zona color ligeramente violeta revelado del extracto de romero como del comprimido extraído del metanol.

En el extracto de romero como en los comprimidos extraídos con metanol tienen la presencia de manchas de color ligeramente violeta con un Rf 0.29, el mismo que pertenece al ácido rosmarínico, según la referencia bibliográfica tomada de WAGNER, H. 1996. Plant Drug Analysis. 2a. ed. Berlín: Springer. Pp. 179.

3.4.2 VALORACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO

CUADRO No. 8 RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE CINAROPICRINA Y ÁCIDO ROSMARÍNICO EN FUNCIÓN DE LA ABSORBANCIA.

	CONCENTRACIÓN (mg/mL)	ABSORBANCIA
Cinaropícrina	20.6	2.279
	7.5	0.997
	1.4	0.394
Ácido rosmarínico	31.7	1.271
	12.7	0.738
	3.2	0.471

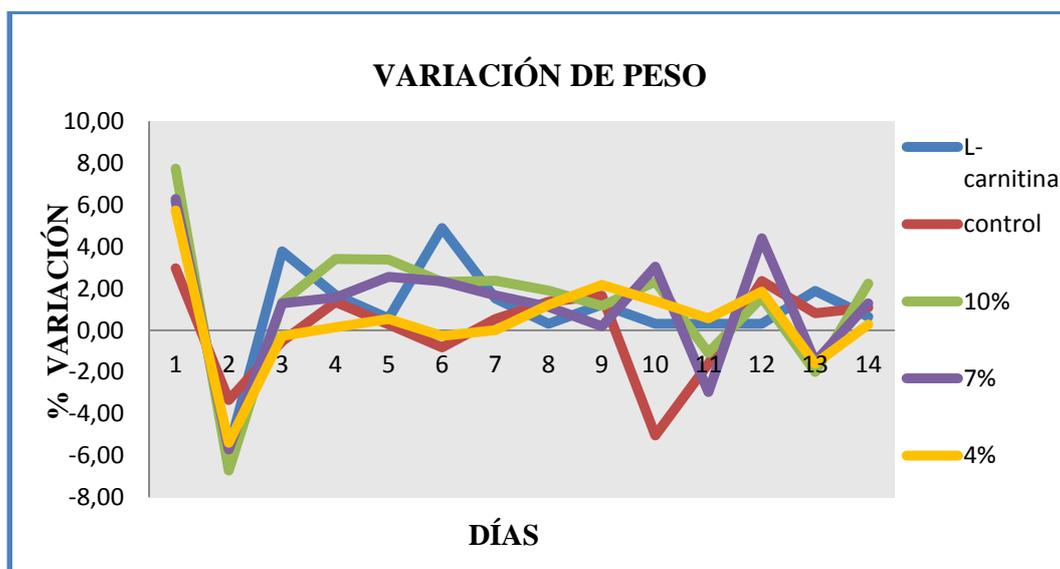
3.5 COMPROBACIÓN DE LA ACTIVIDAD TERAPÉUTICA

El ensayo clínico de la actividad terapéutica se realizó in vivo con ratones del género *Mus musculus*, de sexo masculino y femenino, con 4 meses de edad.

A los ratones se les administró por vía oral los comprimidos, extrayendo sus principios activos en alcohol, evaporando el solvente y reconstituyendo en alcohol al 5% en dosis del 4, 7 y 10 %, respectivamente para dosis alta, media y baja.

Como control positivo se administró L-carnitina 5mL/45kg, para comprobar la eficacia de los comprimidos en relación con la L-carnitina.

El estudio se realizó por 14 días tomando diariamente los pesos; se calculó la relación que existe entre el peso final y el peso inicial por día.



FOTOGRAFÍA No.5 RESULTADO DE LA VARIACIÓN DE PESO ENTRE LA L-CARNITINA Y EL GRUPO CONTROL

En la fotografía se aprecia la variación de peso diaria que existe con la administración de L-carnitina, grupo control, dosis al 4, 7 y 10%, la L-carnitina es un medicamento comprobado con la actividad adelgazante, el grupo control se le administró suero fisiológico como placebo, además se observó que en la dosis al 7 y 10 % la variación de peso de fitofármaco es similar a la L-carnitina, es decir, ambos tienen una eficacia similar en el efecto adelgazante.

CUADRO No. 9 RESULTADOS DEL % DE PÉRDIDA DE PESO DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS

VARIACIÓN DE PESO	PESO INICIAL (g)	PESO FINAL (g)	% PÉRDIDA DE PESO
L-CARNITINA	37.3	31.0	16.9 %
DOSIS ALTA	43.0	34.9	18.8%
DOSIS MEDIA	39.3	33.4	15.0%
DOSIS BAJA	37.5	35.0	6.7%

El control positivo con la administración de L-carnitina tuvo una reducción de peso de 16.9%; mientras que con el tratamiento al 10 % se logró una reducción del 18.8 %, lo que nos quiere decir que va a tener una eficacia similar como adelgazante.

El tratamiento al 10 % equivale a 20.6 mg de cinaropirina y 31.7 mg de ácido rosmarínico.

El tratamiento al 7 % equivale a 7.5 mg de cinaropirina y 12.7 mg de ácido rosmarínico.

El tratamiento al 4 % equivale a 1.4 mg de cinaropirina y 3.2 mg de ácido rosmarínico.

CUADRO No. 10 RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA DE UN FACTOR LSD AL 95%

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de la variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F- valor	p-valor
Entre Grupos	213.1050	5	42.6210	13.9237	0.0001
Dentro Grupos	36.7326	12	3.0610		
Total (corr.)	249.8376	17			

Al realizar el análisis de varianza el valor de F es mayor que el valor crítico para F por lo que existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos.

CUADRO No. 11 RESULTADO ESTADÍSTICO PARA GRUPOS HOMOGÉNEOS APLICANDO TUKEY LSD al 95.0%

TRATAMIENTOS	N	MEDIA	GRUPOS HOMOGÉNEOS	
Blanco	3	-1.10	X	
Control	3	0-50	X	X
Dosis baja	3	2.50		X

Dosis media	3	5.90	X
L-carnitina	3	7.20	X
Dosis alta	3	8.10	X

CUADRO No. 12 CUADRO DE COMPARACIONES MÚLTIPLES

Contraste	Diferencia	+/- Límite
Blanco VS L-carnitina	*-8.3000	*3.1125
Blanco VS control	-1.6000	3.1125
Blanco VS dosis alta	*-9.2000	*3.1125
Blanco VS dosis media	*-7.0000	*3.1125
Blanco VS dosis baja	*-3.6000	*3.1125
L-carnitina VS control	*6.7000	*3.1125
L-carnitina VS dosis alta	-0.9000	3.1125
L-carnitina VS dosis media	1.3000	3.1125
L-carnitina VS dosis baja	*4.7000	*3.1125
Control VS dosis alta	*-7.6000	*3.1125
Control VS dosis media	*-5.4000	*3.1125
control VS dosis baja	-2.0000	3.1125
Dosis alta VS dosis media	2.2000	3.1125
Dosis alta VS dosis baja	*5.6000	*3.1125
Dosis media VS dosis baja	*3.4000	*3.1125

* Diferencia estadísticamente significativa.

Tukey agrupa los tratamientos estadísticamente homogéneos, logrando establecer que la L-carnitina, la dosis alta y media tienen similar eficacia como adelgazante.

3.6 ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA

En este estudio se trabajó con la dosis de 130 mg/kg, en un solo lote de 3 ratones

Para este estudio se extrajo con alcohol los principios activos del comprimido, evaporando el solvente y reconstituyendo en alcohol al 5%. Los resultados se exponen en el cuadro siguiente

CUADRO No. 13 RESULTADO DE LOS SIGNOS CLÍNICOS PRESENTES EN EL ANIMAL DE ESTUDIO

No. DE ANIMALES	1	2	3
Peso (g)	44.1	42.5	42.3
Actividad general	0	0	0
Grito	0	0	0
Irritabilidad	0	0	0
Respuesta al toque	0	0	0
Huida	0	0	0
Patas posteriores	0	0	0
Enderezamiento	0	0	0
Convulsiones	0	0	0
Lagrimación	0	0	0
Micción	0	0	0
Hipotermia	0	0	0

Las respuestas con una anotación normal 0 sólo podrá haber un aumento del efecto analizado, que puede tener máximo 4.

Del cuadro expuesto se concluye que los ratones presentan signos clínicos normales y no tienen comportamiento extraño.

CAPÍTULO IV

4 CONCLUSIONES

1. Se realizó el control de calidad de los comprimidos elaborados con extractos de Alcachofa (*Cynara scolymus*) y Romero (*Rosmarinus officinalis*) mediante el control botánico, químico y espectroscópico con un efecto adelgazante, Tukey agrupa los tratamientos estadísticamente homogéneos logrando establecer que la L-carnitina, la dosis alta y media tienen eficacia como adelgazante farmacológicamente comprobado en ratones (*Mus musculus*) para Neo-FármacoCia. Ltda, garantizando así su inocuidad y calidad sanitaria.
2. En el Cuadro No. 5 se determinan los parámetros de calidad de los vegetales, para la alcachofa: humedad 9.5%, cenizas totales 5.616%, cenizas insolubles en HCl 0.381%, cenizas solubles en agua 2.954% y para el romero: humedad 7.0%, cenizas totales 5.836%, cenizas insolubles en HCl 0.643%, cenizas solubles en agua 0.628%, están dentro de las especificaciones 10%, 6%, 2% y 3%.
3. En el Cuadro No. 6 se establecen los parámetros físicos de los extractos vegetales, para la alcachofa: pH 5.83, índice de refracción 1.383, densidad relativa 0.867 g/mL, sólidos totales 4.3% y para el romero: pH 5.93, índice de refracción 1.331, densidad relativa 0.842 g/mL, sólidos totales 6.3%. El tamizaje fitoquímico realizado sobre los extractos de la Alcachofa (*Cynarascolymus*) y Romero (*Rosmarinusofficinalis*) permitió determinar sus metabolitos secundarios, como: flavonoides, sesquiterpenolactonas, compuestos fenólicos, saponinas, sapogeninas esteroidales y terpenoidales, lípidos y aceites esenciales, azúcares reductores, principios amargos, mucílagos, resinas, y quinonas, siendo los de mayor importancia los sesquiterpeno lactonas y flavonoides que son los marcadores químicos de la Alcachofa (*Cynara scolymus*) y Romero (*Rosmarinus officinalis*), respectivamente. Los resultados del

4. análisis microbiológico están dentro de los límites establecidos por la Farmacopea Brasileña y Británica, lo que significa que los extractos pueden ser utilizados para la elaboración de fitofármacos.
5. En relación a los ensayos de control de calidad de la fabricación de los comprimidos, cuyos resultados se resumen en el Cuadro No. 8, se tiene que la humedad promedio del granulado es 1.908%; las características de su aspecto, son: en forma redondo biconvexo, superficie lisa, color ligeramente amarillento, olor aromático y sabor amargo, en el análisis geométrico se determinó: su espesor 5.07 mm y diámetro 10.26 mm, variación de peso promedio 401.4 mg, dureza 10.12 kgf, tiempo de desintegración 6.04 min, friabilidad 0.16% y el análisis microbiológico; todos están dentro de los límites y especificaciones establecidos por la Farmacopea Brasileña y Británica, por lo tanto es un fitofármaco convencionalmente aceptado en la industria farmacéutica.
6. Mediante la cromatografía en capa fina se determinaron los marcadores químicos, para la alcachofa la cinaropicrina y para el romero el ácido rosmarínico, se comparó los Rf mediante datos bibliográficos, obteniendo un Rf: 0.3 de la cinaropicrina y 0.29 del ácido rosmarínico. También se valoró los marcadores químicos por espectrofotometría, la cinaropicrina a λ 231nm con una absorbancia: 1.93 dando una concentración: 17 mg/mL y el ácido rosmarínico a λ 225 con una absorbancia: 1.08 dando una concentración: 25 mg/mL.
7. Se comprobó la actividad terapéutica del comprimido como adelgazante en ratones (*Mus musculus*), con la administración de L-carnitina como control positivo, que tuvo una reducción de peso de 16.9%; mientras que con el tratamiento al 10 % se logró una reducción del 18.8 %, y con el análisis de varianza de un factor LSD al 95 % Tukey se estableció que la L-carnitina y el tratamiento al 10 % son grupos homogéneos y no tienen diferencia estadística significativa, por lo que se concluye que el fitofármaco tienen cumple con la actividad farmacológica como adelgazante.

CAPÍTULO V

5 RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios de estabilidad acelerada para verificar alteraciones en las características organolépticas, físico-químicas y microbiológicas y microbiológicas del producto.
2. Efectuar estudios clínicos para determinar si existe un cambio en la biodisponibilidad del fitofármaco.
3. El fitofármaco por su composición con extracto de alcachofa y romero, no está indicado usarse durante la lactancia debido a que la alcachofa puede disminuir la secreción de leche y a que los principios amargos pueden acceder la leche materna y conferirle un sabor desagradable, además el romero no debe usarse en el transcurso del embarazo, ya que existe la posibilidad de que induzca un aborto espontáneo por su posible efecto estrogénico.

CAPÍTULO VI

6 RESUMEN

La elaboración de comprimidos adelgazantes en la Industria Neo-Fármaco ubicada en la ciudad de Ambato y la Facultad de Ciencias, ESPOCH. Se realizó con vegetales nacionales, el extracto se obtuvo por maceración y eliminación del solvente.

Los extractos de alcachofa (*Cynara scolymus*) y romero (*Rosmarinus officinalis*) tienen un pH 5.83 y 5.93, índice de refracción 1.383 y 1.331, densidad relativa 0.876 g/mL y 0.842 g/mL, sólidos totales 4.3% y 6.3%, respectivamente. Los análisis microbiológicos dan ausencia de microorganismos. El tamizaje fitoquímico indica en alcachofa la presencia de sesquiterpeno lactonas, saponinas, principios amargos, fenoles, ácidos fenólicos; en el romero existe derivados fenólicos, saponinas, aceites esenciales y resinas.

La formulación del comprimido contiene 4.3% de extracto de alcachofa, 6.3% de romero, 30% de almidón de maíz, 25% lactosa monohidratada, 7% starch 1500, PVP 5%, estereato de Mg 2%, talco 1%, almidón glicolato 19.5%, elaboradas por granulación húmeda.

Los comprimidos son redondos biconvexos, lisos, ligeramente amarillos, con olor aromático y sabor amargo. Peso 402 mg, espesor 5.07 mm, diámetro 10.26 mm, dureza 10.12 kgf, desintegración 6 min, friabilidad 0.17%, ausencia de microorganismos.

Se concluye que después de los análisis los valores obtenidos están dentro de las especificaciones de la Farmacopea Española. La actividad biológica de acción adelgazante fue comprobada en ratones con una reducción de peso del 18.8%. El marcador químico de la alcachofa es la cinaropicrina y del romero el ácido rosmarínico presentes en el vegetal y en los comprimidos. Se recomienda que los comprimidos deben administrarse después de las comidas debido a su sabor amargo y pueden dañar la mucosa gástrica.

7 SUMMARY

The elaboration of slimming tablets in Neo-Farmaco industry located in Ambato city and Facultad de Ciencias, ESPOCH. It was conducted with national plant; the extract was obtained by maceration and removal of the solvent.

The extracts of artichoke (*Cynarascolymus*) and rosemary (*Rosmarinusofficinaiis*) have a pH of 5.83 and 5.93, refraction index of 1.383 and 1.331, relative density of 0.876 g/mL and 0.842 g/mL, and total solids of 4.3% and 6.3% respectively. The microbiological analysis give the absence of microorganisms. Phytochemical screening artichoke indicated in the presence of sesquiterpeno lactones, saponins, essential oils and resins.

The tablet formulation containing 4.3% of arcichoke extract, 6.3 % of rosemary, 30% of corn starch, 25% of lactose monohydrate, 7% of starch 1500, 5% PVP, 2% of Mg stearate, 1% of talc, 19.5% of starch glycolate, elaborated by wet granulation.

The tablets are round biconvex, smooth, slightly yellow, aromatic odor and bitter taste, weight 402 mg, thickness 5.07 mm, diameter 10.26, hardness 10.12 kgf, disintegration 6 min, friability 0.17%, absence of microorganisms.

It is concluded that after the analysis the values obtained are within specifications. Slimming action biological activity was tested in mice with a reduction in weight of 18.8%. The chemical marker of the artichoke is the cinaropicrina and Rosemary the rosmarinico acid present in the vegetable and the tablets. It is recommended that tablets should be administered after meals because of its bitter taste and can damage the gastric mucous.

CAPÍTULO VII

8 BIBLIOGRAFÍA

1. **AGAPITO, T., SUNG, I.**, Fitomedicina., Tomo II., Lima- Perú., Editorial Isabel., 2010., Pp. 70.
2. **BRASIL., AGENCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITARIA.**, Farmacopea Brasileira., 5a ed. Brasilia-Brasil. Editorial Anvisa.,2010.,Pp. 192-206.
3. **CRUZ, J.**, Más de 100 plantas medicinales., Las Palmas-Canarias., Editorial Cuscó., 2007., Pp. 88-90.
4. **ESPAÑA,AGENCIA ESPAÑOLA DE MEDICAMENTOS Y PRODUCTOS SANITARIOS.**, Real Farmacopea Española.,3a ed., Madrid-España., Dirección Europea de Calidad de los Medicamentos (EDQM)., 1997., Pp. 670.
5. **ESTADOS UNIDOS., HARVARD UNIVERSITY.**, PDR For Herbal Medicines., The Information Standard For Complementary Medicine., New Yersey-EEUU., Medical Company Editorial., 2000., Pp. 45-46, 645-647.
6. **GALLEGOS, J.**, Prácticas de Microbiología de Alimentos. Riobamba-Ecuador.,Docucentro ESPOCH. 2005., Pp. 19-21, 33-35, 91-95

7. **GENNARO, A.**, Remington Farmacia., 20a ed. Buenos Aires-Argentina. Editorial Médica Panamericana. 2003., Pp. 997-999, 1005-1010, 1025-1027.
8. **HALL, V., OTROS.**, Plantas medicinales II.,2a ed., San José-Costa Rica., Editorial Grupo Fénix., 2002., Pp. 1-5.
9. **HAVAD, L.**, Manual de Fitoterapia., México DF-México., Editorial Trillas., 2010., Pp. 130-145.
10. **INGLATERRA, CONSEJO DE EUROPA.**, British Pharmacopeia., Inglaterra-Londres., Dirección Europea de Calidad de los Medicamentos (EDQM)., 1968., Pp. 248.
11. **ITZIK, A.**, Las plantas curativas. Sanan desde siempre., Montevideo-Uruguay., Arquetipo grupo Editorial., 2007., Pp. 151.
12. **JÁTIVA, C.**, Texto Básico de Farmacognosia., Riobamba-Ecuador., Docucentro ESPOCH., 2009., Pp. 111-118.
13. **LÓPEZ, T.**, Ámbito Farmacéutico Fitoterapia., España., Editorial OFFARM. 2008., Pp. 60-63.
14. **MIRANDA, M.**, Farmacognosia y Productos Naturales., La Habana-Cuba., Editorial Cámara Cubana del Libro., 2006., Pp. 32-44, 56-62.
15. **MONTALVO, E.**, Introducción a la Tecnología Farmacéutica., Quito-Ecuador., Ediciones Nacionales Unidas (EDINUN).,Pp. 71-92.

16. **MUÑOZ, F.**, Plantas medicinales y aromáticas. Estudio, cultivo y procesado. México DF-México. Ediciones Mundi-Prensa. 1996., Pp. 189-201.
17. **NICOLAI, S.**, Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos. Bogotá- Colombia. Corporación Iberoamericana CYTED., 2000.,Pp. 45-60.
18. **PAHLOW, M.**, Enciclopedia Familiar Everest de las Plantas Medicinales., 2a ed., Madrid-España., Editorial Everest., 2002., Pp. 295-296.
19. **VANACLOCHA, B.**, Fitoterapia Vademécum de Prescripción., 4a ed., Barcelona-España., 2003., Pp. 15, 17, 104, 105.
20. **WAGNER, H.**, Plant Drug Analysis., 2a ed., Alemania-Berlín., 1996., Pp. 96, 97, 178, 179.
21. **MIRANDA, M., OTROS., REVISTA INVESTIGACIÓN EN SALUD.**, Fitoterapia Molecular como parte de la medicina alternativa complementaria en las enfermedades del hígado. México DF-México., Ediciones LID., 2005.,Pp. 64-70.
22. **RAMÍREZ, L., REVISTA INFORMATIVA.**, Alcachofa., México DF-México., Asociación Nacional de Productos Naturales., 2010., Pp. 17.
23. **ECUADOR., INSTITUTO NACIONAL ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (INEN).**, Fitoterápico Droga Cruda Especificaciones Generales., Quito-Ecuador., 1999.,Pp. 6-12.

24. **MIRANDA, L.**, Actividad hipocolesterolémica de plantas de uso etnobotánico en México., Facultad de Ciencias Biológicas., Universidad Autónoma de Nuevo León., México., **TESIS.**, 2010., Pp. 15,16.
25. **ROMERO, A.**, Desarrollo de nuevas metodologías analíticas en el control de calidad de la Industria Farmacéutica., Facultad de Ciencias., Universidad Autónoma de Barcelona., España., **TESIS.**, 2001., Pp. 3,4.

BIBLIOGRAFÍA DE INTERNET

26. ALCACHOFA

[http://portalfarma.com/pfarma/taxonomia/general/gp000011.nsf/0/BF0ED8889267BF7FC1256B670057FB4F/\\$File/ALCACHOFA.htm](http://portalfarma.com/pfarma/taxonomia/general/gp000011.nsf/0/BF0ED8889267BF7FC1256B670057FB4F/$File/ALCACHOFA.htm)
2012/11/10

27. ALCACHOFA (*Cynara scolymus*)

http://www.nutriterapia.cl/site/an_art027.php
2012/11/10

28. ALCACHOFERA

http://www.dfarmacia.com/farma/ctl_servlet?_f=37&id=13044725
2012/11/10

29. ALCACHOFERA (*Cynara scolymus*)

<http://www.casapia.com/Paginacast/Paginas/Paginasdemenus/MenudeInformaciones/PlantasMedicinales/Alcachofera.htm>
2012/11/10

30. ALCACHOFRA IMPORTANTES PARÂMETROS DE CONTROLE DE QUALIDADE NA ESCOLHA DO EXTRATO DE ALCACHOFRA

http://www.martin-bauer-group.com/fileadmin/user_upload/tnn_martin-bauer-group/mbg_finzelberg/downloads/pdf/FBA_Artischocke_br.pdf
2012/11/20

31. CONTROL DE CALIDAD

<http://es.scribd.com/doc/23792777/Control-de-Calidad-de-La-Industria-Farmaceutica-Ensayo>
2013/01/24

32. EL ROMERO (*Rosmarinus officinalis*)

http://www.consumer.es/web/es/alimentacion/aprender_a_comer_bien/plantas_medicinales/2001/11/21/35577.php
2012/12/09

33. ETNO-FARMACOLOGÍA EN IBEROAMÉRICA

<http://www.ugr.es/~cuadgeo/docs/articulos/041/041-003.pdf>
2012/11/24

34. EXTRACTOS BOTÁNICOS CON FINES FARMACÉUTICOS

<http://www.monografias.com/trabajos66/extractos-plantas-medicinales/extractos-plantas-medicinales2.shtml>
2012/12/09

35. EXTRACTO DE ROMERO

<http://www.gananciasmasivas.com/docs/EXTRACTO%20DE%20ROMERO%20-%20Ciencia%20y%20Beneficios.pdf>
2012/12/09

36. FLAVONOIDS FROM ARTICHOKE (*Cynara scolymus* L.) UP-REGULATE

ENDOTHELIAL-TYPE NITRIC-OXIDE SYNTHASE GENE EXPRESSION IN HUMAN ENDOTHELIAL CELLS

<http://jpet.aspetjournals.org/content/310/3/926.full.pdf>

2013/01/28

37. IN VITRO INVESTIGATIONS OF *Cynara scolymus* L. EXTRACT ON CELL PHYSIOLOGY OF HEPG2 LIVER CELLS

www.revistas.usp.br/bjps/article/download/10672/12440

2013/01/28

38. MANUAL DE PLANTAS MEDICINALES

http://www.funtha.gov.ve/doc_pub/doc_260.pdf

2012/11/29

39. PLANTAS MEDICINALES

http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lqf/barranco_l_sl/capitulo1.pdf

2012/12/20

40. PLANTAS MEDICINALES VOLUMEN 2

<http://sibdi.ucr.ac.cr/CIMED/cimed27.pdf>

2012/12/20

41. QUÍMICA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA I

<http://es.scribd.com/doc/62615153/Control-Calidad-Tabletas>

20130124

42. REQUISITOS DE CALIDAD DE PRODUCTOS NATURALES

<http://www.colegiodequimicosyfarmaceuticoselsalvador.com/congreso/SalonB/Requisitos-calidad-de-porodCONGRESO-EL-SALVADOR-2009.pdf>

2012/11/29

43. ROMERO

http://www.dfarmacia.com/farma/ctl_servlet?_f=37&id=13124840

2012/11/14

44. ROMERO, AROMAS SALUDABLES

<http://foro.fuentepermacultura.org/index.php?topic=591.0>

2012/11/14

45. ROMERO (*Rosmarinus officinalis*)

https://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&sqi=2&ved=0CC0QFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.essences-green.com%2Fapp%2Fdownload%2F5789967749%2FRosmarinus%2BOfficinalis.pdf&ei=LboeUZ6OL4eE9QSAu4A4&usg=AFQjCNFuUNE8Jq_xGwflbVMNNjUM0NFmeQ&bvm=bv.42553238,d.eWU

2012/11/22

46. ROMERO BENEFICIOS

<http://www.lr21.com.uy/comunidad/311634-extracto-de-romero-para-potenciar-la-lucidez-mental-y-la-memoria>

2012/12/18

47. TABLETAS

http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Tema2-parte3-tabletas_15418.pdf

2013/01/29

48. TABLETAS TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA

http://docencia.izt.uam.mx/ferm/uueeaa/material_adicional/presentaciones_pdf/Tabletas.pdf

2013/01/29

49. TENDENCIAS ACTUALES EN EL CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS NATURALES

<http://www.profitocoop.com.ar/articulos/ORplantasmedicinales.pdf>

2012/12/20

50. VADEMÉCUM DE FITOTERAPIA

http://www.enlataverna.com/lib_lin/vandemecum%20de%20fitoterapia.pdf

2012/12/20

CAPÍTULO VIII

9 ANEXOS

ANEXO No. 1 CERTIFICADO DE ANÁLISIS DEL ALMIDÓN DE MAÍZ

PROVEEDOR: QUIBECO

N° DE ANÁLISIS: 1041

LOTE DEL PROVEEDOR: 0721362

F ANÁLISIS: 2012-12-15

CÓDIGO: MP ALMAIZ

CANTIDAD: 30 000 kg

FECHA DE ELABORACIÓN: 2012-10-19

BULTOS: 1200

FECHA DE EXPEDICIÓN: 2013-10-19

ENSAYOS	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
Descripción	Polvo fino, blanco, inodoro y de sabor tenue característico, gránulos redondeados o esteroides de 35 μ de diámetro.	Conforme
Solubilidad	Soluble en agua caliente e insoluble en agua fría	Conforme
Pérdida por secado	11.5-13.0%	12.55%
Residuos de Ignición	No más del 5% en 2 g de muestra	0.025%
pH	4.5-6.0	5.6
Microbiología	Aerobios Totales < 100 UFC/g	10 UFC/g
	Hongos y Levaduras < 10 UFC/g	<10 UFC/g

Disposición: Aprobado

Fuente: Certificado del Proveedor

ANEXO No. 2 CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE LACTOSA MONOHIDRATADA

PROVEEDOR: RESIQUIM S.A.

No DE ANÁLISIS: 0912

LOTE DEL PROVEEDOR: 101011

F ANÁLISIS: 2012-05-16

CÓDIGO: MP LACTMO

CANTIDAD: 18 000 kg

FECHA DE ELABORACIÓN: 2011-10

BULTOS: 720

FECHA DE EXPEDICIÓN: 2014-10

ENSAYOS	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
Descripción	Polvo blanco cristalino o blanco cremoso, ligeramente dulce e inodoro.	Conforme
Solubilidad	1g es soluble en 5 mL de agua y 2.6 mL de agua hirviente; muy poco soluble en alcohol; insoluble en cloroformo y éter.	Conforme
Identificación	Disolver 250 mg de lactosa en 5mL de agua, adicionar 3 mL de NH ₄ OH y calentar a baño María a 80°C por 10 minutos se forma un color rojo.	Positivo
Acidez o alcalinidad	< 0.4 mL de NaOH 0.1N	0.20 mL
pH	En solución al 10%, de 4.0-6.5	4.2
Pérdida por secado	4.5-5.5%	5.0%
Residuos de ignición	No más del 0.1%	0.02%
Microbiología	Aerobios Totales < 100 UFC/g	< 100 UFC/g
	<i>E. coli</i> Ausencia	Ausencia
	<i>Salmonella</i> Ausencia	Ausencia
	<i>Pseudomonas</i> Ausencia	Ausencia
	Hongos y Levaduras < 10 UFC/g	<10

Disposición: Aprobado

Fuente: Certificado del Proveedor

ANEXO No. 3 CERTIFICADO DE ANÁLISIS DEL STACH 1500

PROVEEDOR: RESIQUIM S.A.

No DE ANÁLISIS: 0980

LOTE DEL PROVEEDOR: IN522447

F ANÁLISIS: 2012-07-09

CÓDIGO: MP STARCH

CANTIDAD: 150 kg

FECHA DE ELABORACIÓN: 2011-12-06

BULTOS: 6

FECHA DE EXPEDICIÓN: 2015-12-05

ENSAYOS	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
Descripción	Polvo blanco.	Conforme
pH	4.5-7.0	5.6
Pérdida por secado	Máx 14%	8.0%
Residuos de ignición	No más del 0.5%	0.3%
	Aerobios Totales < 100 UFC/g	10 UFC/g

Microbiología	<i>E. coli</i> Ausencia	Ausencia
	<i>Salmonella</i> Ausencia	Ausencia
	<i>Pseudomonas</i> Ausencia	Ausencia
	Hongos y Levaduras < 10 UFC/g	<10

Disposición: Aprobado

Fuente: Certificado del Proveedor

ANEXO No. 4 CERTIFICADO DE ANÁLISIS DEL POLIVINILPIRROLIDONA (PVP) K30

PROVEEDOR: QUIBECO

No DE ANÁLISIS: 1205

LOTE DEL PROVEEDOR: P120402001-1

F ANÁLISIS: 2012-09-24

CÓDIGO: MP PVP

CANTIDAD: 500 kg

FECHA DE ELABORACIÓN: 2012-04-02

BULTOS: 20

FECHA DE EXPEDICIÓN: 2015-04-02

ENSAYOS	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
Descripción	Polvo blanco o blanco cremoso, inodoro, higroscópico y sabor dulce.	Conforme
Solubilidad	Soluble en agua y cloroformo. Insoluble en éter.	Conforme
pH	En solución al 5% en agua, de 3.0-7.0	4.0
Pérdida por secado	≤5.0%	1.4%
Residuos de ignición	No más del 0.1%	0.047%
Microbiología	Aerobios Totales < 100 UFC/g	< 100 UFC/g
	<i>E. coli</i> Ausencia	Ausencia
	<i>Salmonella</i> Ausencia	Ausencia
	<i>Pseudomonas</i> Ausencia	Ausencia
	Hongos y Levaduras < 10 UFC/g	<10

Disposición: Aprobado

Fuente: Certificado del Proveedor

ANEXO No. 5 CERTIFICADO DE ANÁLISIS DEL ESTEARATO DE MAGNESIO

PROVEEDOR: RESIQUIM S.A.

No DE ANÁLISIS: 1102

LOTE DEL PROVEEDOR: 20100929

F ANÁLISIS: 2012-09-24

CÓDIGO: MP ESTEARMG

CANTIDAD:4500 kg

FECHA DE ELABORACIÓN: 2010-09-29

BULTOS: 180

FECHA DE EXPEDICIÓN: 2014-09-29

ENSAYOS	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
Descripción	Polvo fino, tiene un olor característico y es untuoso, es decir, se adhiere con facilidad a la piel	Conforme
Solubilidad	Insoluble en agua, etanol y éter.	Conforme
Punto de fusión	110°C	110°C
Determinación de cloruros	No más de 1.4 mL consumidos de HCl 0.02N.	0.3 mL
Determinación de sulfatos	No más de 3.0 mL de H ₂ SO ₄ 0.1N	1.0 mL
Acidez o alcalinidad	No más de 0.05 mL de HCl o NaOH 0.1N para producir cambio de color	0.2 mL
Pérdida por secado	Máx5%	5.0%
Microbiología	Aerobios Totales < 100 UFC/g	< 100 UFC/g
	<i>E. coli</i> Ausencia	Ausencia
	<i>Salmonella</i> Ausencia	Ausencia
	<i>Pseudomonas</i> Ausencia	Ausencia
	Hongos y Levaduras < 10 UFC/g	<10

Disposición: Aprobado

Fuente: Certificado del Proveedor

ANEXO No. 6 CERTIFICADO DEL TALCO

PROVEEDOR: QUIBECO.

No DE ANÁLISIS: 1234

LOTE DEL PROVEEDOR: 20100929

F ANÁLISIS: 2012-10-14

CÓDIGO: MP TALC

CANTIDAD: 500 kg

FECHA DE ELABORACIÓN: 2011-07

BULTOS: 20

FECHA DE EXPEDICIÓN: 2014-07

ENSAYOS	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
Descripción	Polvo cristalino muy fino, blanco o blanco grisáceo y untuoso.	Conforme
Solubilidad	Insoluble en agua y etanol.	Conforme
Sustancias solubles	No debe exceder de 5 mg	110°C
Pérdida por secado	No pierde más que 6.5% de su peso	4.5%
Microbiología	Aerobios Totales < 100 UFC/g	< 100 UFC/g
	<i>E. coli</i> Ausencia	Ausencia
	<i>Salmonella</i> Ausencia	Ausencia
	<i>Pseudomonas</i> Ausencia	Ausencia
	Hongos y Levaduras < 10 UFC/g	<10 UFC/g

Disposición: Aprobado

Fuente: Certificado del Proveedor

ANEXO No. 7 CERTIFICADO DEL ALMIDÓN GLICOLATO

PROVEEDOR:QUIFATEX

No DE ANÁLISIS: 1405

LOTE DEL PROVEEDOR: SSG/307

F ANÁLISIS: 2013-01-10

CÓDIGO: MP ALMGLI

CANTIDAD:300 kg

FECHA DE ELABORACIÓN: 2010-07

BULTOS: 12

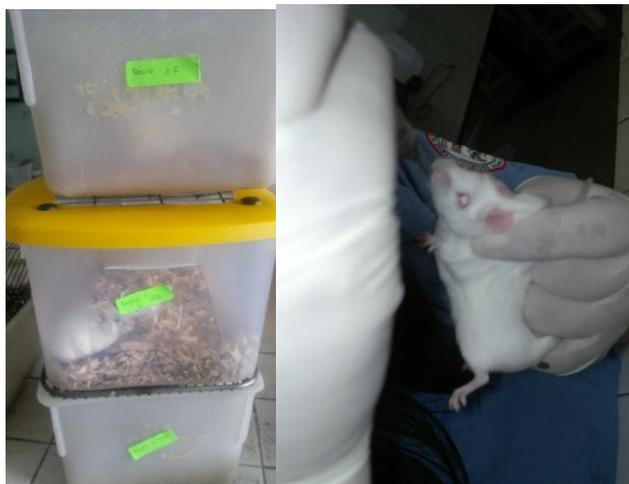
FECHA DE EXPEDICIÓN: 2015-06

ENSAYOS	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
Descripción	Polvo fino, blanco y de tenue sabor característico.	Conforme
Solubilidad	Prácticamente insoluble en agua y metanol. Soluble en soluciones alcalinas.	Conforme
pH	5.57.5	6.0
Pérdida por secado	No pierde más que 10.0% de su peso	6.5%
Microbiología	Aerobios Totales < 100 UFC/g	< 100 UFC/g
	<i>E. coli</i> Ausencia	Ausencia
	<i>Salmonella</i> Ausencia	Ausencia
	<i>Pseudomonas</i> Ausencia	Ausencia
	Hongos y Levaduras < 10 UFC/g	<10

Disposición: Aprobado

Fuente: Certificado del Proveedor

ANEXO No. 8 ENSAYO FARMACOLÓGICO EN RATONES (*Mus musculus*)



ANEXO No. 9 REGISTRO DE PESOS DE LOS RATONES DEL TRATAMIENTO CON L-CARNITINA, GRUPO CONTROL Y BLANCO.

DÍAS	BLANCO	L-CARNITINA	GRUPO CONTROL
0	31.0	37.3	37.0
1	31.2	35.0	35.9
2	31.5	37.0	37.1
3	31.3	35.6	37.3
4	30.8	35.0	36.8
5	30.5	34.8	36.7
6	30.9	33.1	37.0
7	31.6	32.6	36.8
8	32.3	32.5	36.3
9	31.6	32.1	35.7
10	30.5	32.0	37.5
11	30.9	31.9	38.1
12	31.6	31.8	37.2
13	31.8	31.2	36.9
14	32.1	31.0	36.5

ANEXO No. 10 REGISTRO DE PESOS DE LOS RATONES (*Mus musculus*) EL GRUPO CON DOSIS ALTA.

DÍAS	GRUPO CON DOSIS ALTA			MEDIA
	PESO RATÓN 1	PESO RATÓN 2	PESO RATÓN 3	
0	44.1	42.5	42.3	43.0
1	40.0	39.3	39.6	39.6
2	43.6	42.3	41.0	42.3

3	42.8	41.9	40.5	41.7
4	40.9	40.1	39.9	40.3
5	39.1	38.9	38.8	38.9
6	38.6	38.1	37.4	38.0
7	37.9	37.0	36.5	37.1
8	37.8	36.0	35.5	36.4
9	37.1	35.3	35.6	36.0
10	36.5	34.4	34.6	35.2
11	36.1	35.6	34.9	35.5
12	35.1	34.9	34.9	35.0
13	36.1	35.8	35.1	35.7
14	35.5	34.4	34.7	34.9

ANEXO No. 11 REGISTRO DE PESOS DE LOS RATONES (*Mus musculus*) EL GRUPO CON DOSIS MEDIA.

DÍAS	GRUPO CON DOSIS MEDIA			MEDIA
	PESO RATÓN 1	PESO RATÓN 2	PESO RATÓN 3	
0	39.5	39.0	39.3	39.3
1	36.8	37.1	36.5	36.8
2	39.3	38.5	38.9	38.9
3	38.8	38.1	38.3	38.4
4	38.0	37.9	37.5	37.8
5	37.3	36.5	36.7	36.8
6	36.0	35.9	36.0	36.0
7	35.1	35.2	35.8	35.4
8	34.9	34.9	35.1	35.0
9	34.4	35.0	35.3	34.9
10	33.9	33.3	34.3	33.8
11	35.1	34.4	35.0	34.8
12	33.2	33.2	33.5	33.3
13	33.7	33.9	33.8	33.8
14	33.3	33.6	33.2	33.4

ANEXO No. 12 REGISTRO DE PESOS DE LOS RATONES (*Mus musculus*) EL GRUPO CON DOSIS BAJA.

DÍAS	GRUPO CON DOSIS BAJA		MEDIA
	PESO RATÓN 1	PESO RATÓN 2	
0	37.6	37.3	37.5

1	35.1	35.5	35.3
2	37.3	37.1	37.2
3	37.4	37.2	37.3
4	37.4	37.1	37.3
5	37.1	37.0	37.1
6	37.4	36.9	37.2
7	37.5	36.8	37.2
8	37.1	36.3	36.7
9	36.0	35.8	35.9
10	35.5	35.3	35.4
11	35.3	35.1	35.2
12	34.4	34.7	34.6
13	35.5	34.7	35.1
14	35.2	34.8	35.0

ANEXO No. 13 DETERMINACIÓN DE HUMEDADEN ALCACHOFA (*Cynara scolymus*) Y ROMERO (*Rosmarinus officinalis*).



ANEXO No. 14 DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES EN ALCACHOFA (*Cynara scolymus*) Y ROMERO (*Rosmarinus officinalis*).



ANEXO No. 15 CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE ALCACHOFA (*Cynara scolymus*) Y ROMERO (*Rosmarinus officinalis*).



ANEXO No. 16 DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD Y pH DE LOS EXTRACTOS



ANEXO No. 17 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LOS EXTRACTOS



ANEXO No. 18 PROCESO DE MANUFACTURA DE LOS COMPRIMIDOS



Materias primas para la formulación del lote



Mezclar las materias primas intragranulares



Tamizar la mezcla por una malla No. 14



Disolver el PVP en agua y calentar



Añadir el PVP y los extractos vegetales a la mezcla inicial



Tamizar la masa por una malla No. 14

 <p>Colocar el granulado en papel krap y este en una bandeja de aluminio</p>	 <p>Secar el granulado en el horno a 45°C</p>
 <p>Tamizar el granulado por una malla No. 6, mezclar con las materias primas extragranulares y mezclar por 30 min.</p>	 <p>Tabletear el granulado con punzón redondo plano de 10 mm y con un peso de 400 mg</p>

ANEXO No. 19 DETERMINACIÓN DE DUREZA, FRIABILIDAD Y DESITEGRACIÓN EN LOS COMPRIMIDOS FITOFARMACÉUTICOS. REALIZADO EN EL DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD DEL LABORATORIO NEO-FÁRMACO. AMBATO. ENERO 2013.



ANEXO No. 20 CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS COMPRIMIDOS FITOFARMACÉUTICOS.

