

*Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia*

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central shield with a figure, surrounded by various heraldic symbols. The Latin motto "CETERA PARVIBUS CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA COACTEMALENSIS INTER" is inscribed around the perimeter of the seal.

**EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD ACELERADA DE UNA TINTURA VEGETAL
COMERCIALIZADA CON PROPIEDAD ANTIBACTERIANA, PREPARADA A PARTIR DE
Gnaphalium stramineum HBK (flores), *Plantago major* L. (hojas), *Psidium guajava* L. (hojas) y *Tagetes
lucida* Cav. (hojas y flores), EN SOLUCION ALCOHOLICA AL 35%.**

Informe final

Presentado por:

Wendy Carolina Flores Barrios

Para optar al título de

Química Farmacéutica

Guatemala, octubre de 2008

ÍNDICE

| | Página |
|-----------------------------|---------------|
| I. Resumen | 1 |
| II. Introducción | 3 |
| III. Antecedentes | 5 |
| IV. Justificación | 7 |
| V. Objetivos | 8 |
| VI. Hipótesis | 9 |
| VII. Materiales y Métodos | 10 |
| VIII. Resultados | 20 |
| IX. Discusión de Resultados | 22 |
| X. Conclusiones | 25 |
| XI. Recomendaciones | 27 |
| XII. Referencias | 28 |
| XIII. Anexos | 32 |

I. RESUMEN

La estabilidad de un producto se define como la extensión de la vida en anaquel, en la que este mantiene sus propiedades químicas y físicas durante un período de almacenamiento. ⁽²⁾ La utilización de productos fitoterapéuticos se ha incrementado por el interés del regreso a lo natural que existe de forma general en la sociedad. Sin embargo, va más allá de una simple moda, representa un incremento del interés en los tratamientos naturales para problemas de salud, con mayor seguridad y eficacia, tratándose en este momento más bien de una tendencia global. ⁽¹⁾

La evaluación de los medicamentos a base de plantas medicinales debe seguir las pautas que rigen la evaluación de los medicamentos obtenidos por síntesis química, debido a que no existen metodologías farmacopéicas de análisis para dichos productos. El presente informe, plantea una metodología para la evaluación de la estabilidad acelerada de una tintura obtenida a partir plantas medicinales, las cuales poseen actividad antibacteriana comprobada. Se tomó en cuenta para la evaluación parámetros fisicoquímicos (Características organolépticas: color, olor y examen físico. Características fisicoquímicas: pH, densidad, grado alcohólico y sólidos totales), microbiológicos (Conteo aeróbico en placa: bacterias mesófilas, mohos y levaduras. Recuento de enterobacterias: coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli*) y la caracterización fitoquímica de grupos comunes (Flavonoides y Cumarinas); los cuales influyen en la calidad, eficacia y seguridad del fitofármaco. También se evaluó la actividad antibacteriana *in vitro* de la tintura por medio de la prueba de Mitscher *et al.*

La prueba de estabilidad que se realizó a los lotes de tintura con propiedad antibacteriana fue acelerada, la cual utiliza condiciones de almacenamiento extremas, una temperatura de $40 \pm 2^\circ\text{C}$ y un tiempo total de 180 días.

Para obtener un 95% de confiabilidad se evaluaron los resultados de los parámetros anteriormente mencionados, en tres diferentes lotes de tintura a tiempo 0, 90 y 180 días. El análisis estadístico se realizó de manera descriptiva aplicando medidas de tendencia

central en cada tiempo de medición. La medición de las variables cuantitativas se realizó por triplicado en cada una de las mediciones.

Luego de la evaluación en cada tiempo se recopilaron los resultados en tablas individuales para cada lote. Los resultados obtenidos demostraron que luego de 180 días de almacenamiento a condiciones extremas de temperatura, las características fisicoquímicas y microbiológicas de la tintura se mantienen dentro de los rangos aceptados para la forma farmacéutica, con excepción del grado alcohólico. También se encontró que los metabolitos activos no desaparecen después del tiempo de prueba y que en los tres lotes analizados la actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *E. coli*, es positiva contra *S. aureus* en los tres lotes y el lote C se logró la inhibición además de *B. subtilis* y *P. aeruginosa*.

II. INTRODUCCIÓN

Las tinturas son preparaciones líquidas, por lo general obtenidas por extracción de materia vegetal con alcohol o mezclas hidroalcohólicas. Tradicionalmente, las tinturas de artículos potentes de origen botánico representan la actividad de 10 g del fármaco en 100 ml de tintura, ajustándose la concentración después de la prueba para ajustar el contenido de principios activos o compuestos marcadores.⁽¹⁾

La estabilidad de un producto se define como la extensión de la vida en anaquel, en la que este mantiene sus propiedades químicas y físicas durante un período de almacenamiento. Este estudio es muy importante, ya que se debe establecer y mantener la estabilidad de los productos que se manufacturan para prevenir un fallo terapéutico y reacciones contrarias.⁽²⁾

La calidad es un requisito básico de los medicamentos, no solo por su significación intrínseca, sino porque constituye la base para la reproducibilidad de los parámetros de seguridad y eficacia; parámetros que resultan ser mucho más complejos en los preparados a partir de plantas medicinales, que en fármacos preparados con moléculas obtenidas por síntesis química. Generalmente un fitofármaco es un sistema complejo de compuestos y no un compuesto puro, por lo cual la caracterización y demostración de la estabilidad de los componentes se hace mucho más difícil.

Aunque la evaluación de los medicamentos a base de plantas debe seguir las pautas que rigen la evaluación de los medicamentos producto de síntesis química, las reglamentaciones existentes, generalmente designadas pensando en principios activos constituidos por una sola molécula, no siempre se adaptan a fitocomplejos como es el caso de las drogas vegetales y extractos, de los cuales además no se conocen con certeza los componentes responsables de su actividad. Por otra parte las diferencias existentes en la evaluación de la calidad, seguridad y eficacia entre los diferentes países pueden representar un riesgo al consumidor y dificultar la libre circulación de medicamentos a base de plantas.

El presente trabajo, planteó una metodología para la evaluación de la estabilidad acelerada de una tintura con propiedades antibacterianas, tomando en cuenta parámetros microbiológicos, fisicoquímicos, caracterización fitoquímica de grupos comunes y

actividad antibacteriana; los cuales influyen en la calidad, eficacia y seguridad del fitofármaco.

III. ANTECEDENTES

Después de una revisión bibliográfica acerca de productos fitoterapéuticos, no se encontró referencia alguna sobre estudios de estabilidad para productos fitofarmacéuticos de tipo tintura en los listados de tesis o libros en la Biblioteca de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, la biblioteca de la Universidad del Valle de Guatemala, o alguna referencia en páginas de Internet en español. Únicamente se cita las características que debe tener un producto dependiendo de la forma farmacéutica, para cumplir con las especificaciones de calidad y las condiciones que debe mantener a través de su tiempo de vida útil.

Al hablar de estabilidad la definimos como la capacidad que posee un producto para mantener sus condiciones y características dentro de los límites específicos a través de un período de almacenamiento y uso. Este deberá mantener las mismas características que tenía en el momento de su manufactura.⁽¹⁾

Existen varios factores que pueden afectar la estabilidad del producto y cada componente de un medicamento puede ser responsable potencial de un cambio en la potencia del producto. Los principales factores son: factores ambientales, tales como temperatura, radiación, luz, aire (presencia de oxígeno, dióxido de carbono y vapor de agua), humedad, tamaño de partícula, pH, propiedades de los disolventes o del agua, naturaleza de los contenedores y contaminantes.⁽¹⁾

Todos los estudios deben llevarse a cabo en muestras en contacto con la tapa para determinar si existe alguna interacción que afecte la estabilidad del producto y es necesario que se utilicen tres lotes de producción con la formulación y el material de empaque o envase primario.⁽²⁾

Los estudios de estabilidad a tiempo real (a largo plazo), son experimentos relacionados con las características físicas, químicas, biológicas, biofarmacéuticas y microbiológicas de un medicamento, durante y más allá del tiempo de conservación y el periodo de almacenamiento previstos, y que se hacen en muestras mantenidas en condiciones de almacenamiento semejantes a las que habrá en donde habrán de comercializarse. Los resultados determinan el tiempo de conservación previsto y recomiendan las condiciones de almacenamiento.⁽²⁾

Los estudios acelerados de estabilidad, están ideados para aumentar la tasa de degradación química y física de un medicamento sometiéndolo a condiciones de almacenamiento excesivas. Los datos que se obtienen pueden utilizarse para evaluar los efectos químicos a largo plazo en condiciones no aceleradas y para determinar el efecto de las desviaciones a corto plazo de las condiciones señaladas en la etiqueta. Los resultados obtenidos no pueden predecir alteraciones físicas, sino son estudios de tipo presuntivo, por lo cual necesitan de un estudio a tiempo real (a largo plazo) paralelo, que apoye con buenos resultados la concentración de principio activo, las características organolépticas, el pH, los límites microbianos y cuando proceda la suspendibilidad (en suspensiones), pérdida de peso (envase de plástico), prueba de eficacia de conservadores y valoración de los mismos, esterilidad y materia particulada. ⁽²⁾

Existen cinco tipos de estabilidad reconocidos, la estabilidad química en la cual todo ingrediente activo debe retener la integridad química y la potencia reportada, de acuerdo a los límites especificados. La estabilidad física en la que el producto deberá conservar sus propiedades físicas tales como apariencia, palatabilidad, uniformidad y disolución. La estabilidad microbiológica, ya que el producto debe demostrar falta de contaminación o resistencia al crecimiento microbiano de acuerdo a las especificaciones. En caso de tener agentes antimicrobianos, debe retener la efectividad dentro de los límites de uso. La estabilidad terapéutica, en la que el efecto terapéutico del producto no debe cambiar y estabilidad toxicológica, en la que no debe ocurrir ningún incremento significativo de toxicidad del producto. ⁽¹⁾

Para determinar la efectividad de la actividad de la potencia antibacteriana de los productos medicinales puede realizarse bioensayos, que demuestren cualitativamente o cuantitativamente la capacidad de la sustancia activa, para inhibir el crecimiento de la o las bacterias, para las cuales tiene una indicación terapéutica.

IV. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, no existen procedimientos o monografías individuales para la determinación de las características organolépticas, fisicoquímicas, microbiológicas y potencia de la actividad de productos medicinales de origen botánico. Es por esto que plantear el alcance y la metodología de un estudio de estabilidad resulta ser muy importante.

Es frecuente que el formulador de un producto determine en primer lugar los efectos que tienen sobre el o los ingredientes activos factores tales como la temperatura, la luz, el aire, el pH, la humedad, los rastros de metales y los excipientes o disolventes utilizados en la formulación. Tomando esto en cuenta se debe valorar la potencia empleando un método indicador de estabilidad, se inspecciona el producto en busca de cambios físicos y si corresponde se somete a pruebas de carga microbiana y/o resistencia al crecimiento microbiano y para evaluar la toxicidad y la biodisponibilidad.

Aunque la evaluación de los medicamentos a base de plantas debe seguir las pautas que rigen la evaluación de los medicamentos obtenidos por síntesis química, las reglamentaciones existentes, generalmente designadas pensando en principios activos constituidos por una sola molécula, no siempre se adaptan a los fitocomplejos como es el caso de las drogas vegetales y extractos, de los cuales además no se conocen con certeza los componentes responsables de su actividad o bien se trata del efecto sinérgico de varias moléculas. Por otra parte las diferencias existentes en la evaluación de la calidad, seguridad y eficacia entre los diferentes países pueden representar un riesgo al consumidor y dificultar la libre circulación de medicamentos a base de plantas. Es por esto que resultaría de gran utilidad realizar bioensayos, para determinar cualitativamente o cuantitativamente, la potencia de la actividad terapéutica que se le atribuye a la sustancia estudiada.

V. OBJETIVOS

A. Generales

1. Determinar las características de una tintura con propiedades antibacterianas comercializada en Guatemala, preparada a partir de plantas medicinales, mediante pruebas de estabilidad acelerada.

B. Específicos:

1. Determinar la estabilidad organoléptica, fisicoquímica y microbiológica de una tintura vegetal con propiedades antibacterianas, producida a partir de plantas medicinales
2. Establecer directrices para los estudios de estabilidad de productos fitofarmacéuticos, para el establecimiento del tiempo de validez, la fecha de vencimiento de cada lote y las condiciones de almacenamiento.
3. Adaptar una metodología de análisis de estabilidad de productos naturales a partir de las pruebas utilizadas para medicamentos de síntesis.

VI. HIPÓTESIS

Las características organolépticas, fisicoquímicas, microbiológicas y de potencia de la actividad antibacteriana de una tintura preparada a partir de *Gnaphalium stramineum* HBK (flores), *Plantago major* L (hoja), *Psidium guajava* L (hoja) y *Tagetes lucida* Cav. (hoja y flor), en solución alcohólica al 35%, se mantienen al variar las condiciones normales de almacenamiento.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo

Tinturas fitoterapéuticas comercializadas en Guatemala.

B. Muestra

1. Muestras de tres lotes de tintura comercializada con propiedad antibacteriana, elaborados con Buenas Prácticas de Manufactura bajo supervisión de la autora de la investigación.

B. Recursos Humanos:

| | |
|----------------------------------|-------------|
| Wendy Carolina Flores Barrios | Autora |
| Lcda. Lucrecia Martínez de Haase | Asesora |
| Lic. Armando Cáceres | Co – Asesor |
| Licda. Aylin Santizo | Revisora |

C. Materiales

1. Materia vegetal desecada de:
 - *Psidium guajava* (hoja)
 - *Gnaphalium stramineum* (flor)
 - *Tagetes lucida* (hoja y flor)
 - *Plantago major* (hoja)
2. Cristalería de laboratorio
 - Vasos de precipitar
 - Tubos de ensayo

- Tubos para análisis microbiológico
- Cajas de Petri
- Varillas de agitación
- Vidrios de reloj
- Pipetas serológicas de 1, 5 y 10 mL
- Crisoles
- Cápsulas de porcelana
- Pipeteadores

3. Equipo de Laboratorio

- Mechero Bunsen
- Campana Microbiológica
- Percolador de acero inoxidable
- Incubadora a 35°C
- Incubadora para estabilidad $40 \pm 2^\circ\text{C}$
- Mufla
- Potenciómetro
- Balanza analítica
- Espectrofotómetro

4. Material para análisis microbiológico

- Caldo lactosado
- Caldo bilis verde brillante
- Caldo *E. coli*
- Agar Sabouraud
- Agar plate count
- Agar Muller Hinton

5. Reactivos

- Ácido acético

- Acetato de etilo
 - Éter de petróleo
 - Etanol 95%
 - Magnesio metálico
 - Alcohol octílico
 - Estándar de cumarina
 - Estándar de hiperósido
 - Estándar de Ácido Clorogénico
 - Estándar de Quercetina
 - Estándar de Rutina
 - Tolueno
 - Hidróxido de potasio
 - Agua destilada
6. Material de laboratorio
- Tubos capilares sin heparina
 - Cromatoplasmas de Silica gel 60 F - 254
 - Papel filtro
 - Papel mayordomo
 - Picnómetro
 - Baño de María
7. Material de oficina
- Computadora personal
 - Impresora
 - Bolígrafos
 - Hojas papel Bond 80 g blanco
 - Tinta para impresora
 - Lápices
 - Calculadora

E. Métodos

1. Diseño experimental:

Por ser un producto cuya actividad depende de fitocomplejos, no fué posible realizar los cálculos de estabilidad establecidos para moléculas sintéticas, por lo que la estabilidad se evaluó a través de los siguientes parámetros:

- Fisicoquímicos:
 - Características organolépticas: color, olor y examen físico.
 - Características fisicoquímicas: pH, densidad relativa, grado alcohólico y sólidos totales.

- Microbiológicos:
 - Conteo aeróbico en placa: bacterias mesófilas, mohos y levaduras
 - Recuento de enterobacterias: coliformes totales, coliformes fecales y determinación de *E. coli*.

- Caracterización fitoquímica:
 - Identificación de flavonoides
 - Identificación de cumarinas

- Determinación de la actividad antibacteriana

Para obtener un 95% de confiabilidad se evaluaron los resultados de los parámetros anteriormente mencionados, en tres diferentes lotes de tintura a tiempo 0, 90 y 180 días. El análisis estadístico se realizó de manera descriptiva aplicando medidas de tendencia central en cada tiempo de medición.

2. Metodología

Se procedió de la siguiente manera:

a) Producto terminado:

La metodología para la determinación de estabilidad acelerada de tres lotes de producción de tintura antibacteriana comercializada en Guatemala, se llevó a cabo a tiempo 0 días (inicial), tiempo 90 días y tiempo 180 días; a una temperatura de $40 \pm 2^\circ\text{C}$.⁽⁶¹⁾ (Anexo C).

i) Determinación características organolépticas

- Color:
 - Prueba 1: Se tomó una muestra de 10 ml en un tubo de ensayo, se verificó el color de la tintura y se comparó con el catalogo de colores Pantone ®, durante cada uno de los tiempos de muestreo.
 - Prueba 2: Se realizaron 4 diluciones con agua destilada de cada una de las muestras: 2:1000, 4:1000, 6:1000 y 8:1000 respectivamente, se determinó la longitud de onda de mayor absorción por medio de un barrido en un espectrofotómetro.
- Olor: Se tomó una tira de papel filtro de 10 cm de largo por 1 cm de ancho y se introdujo uno de los extremos en una muestra de 5 ml de tintura. Se escogió un panel de tres personas para oler y describir las muestras. (Anexo B)

- Examen físico: Turbidez, sedimentación y separación de fases.
Se tomó una muestra de 10 ml de tintura en un tubo de ensayo 13 x 100, se puso contra la luz, la muestra debía presentarse translúcida, homogénea, en una sola fase y no debía presentar residuos sólidos.

8. Características fisicoquímicas

- pH: Se tomó una muestra de tintura a volumen requerido en un tubo de ensayo y se midió por potenciometría.

Procedimiento: Se introdujo el electrodo y el termómetro dentro de la muestra, manteniéndolos dentro de la solución el tiempo necesario para estabilizar el electrodo, como mínimo 30 segundos. Inmediatamente debía aparecer el pH y la temperatura. Es posible obtener el valor en mV presionando el botón Range. Si se van a realizar diferentes mediciones sucesivamente, es recomendable lavar el electrodo con agua desionizada.

- Densidad relativa: Se tomó un picnómetro previamente lavado y seco. Se pesó y se anotó el peso exacto. Se llenó el picnómetro con agua destilada y se pesó, se anotó el peso exacto. Luego se retiró el agua destilada y se lavó con acetona, se llenó el picnómetro con muestra de tintura y se pesó, se anotó el peso exacto. Una vez obtenidos los pesos, se determinó la densidad relativa con la siguiente formula:

$$\text{Densidad relativa} = \frac{(\text{Peso del picnómetro con muestra}) - (\text{Peso de picnómetro vacío})}{(\text{Peso de picnómetro con agua}) - (\text{Peso de picnómetro vacío})}$$

- Grado alcohólico: Se tomó una muestra de 250 ml de tintura en una probeta a volumen y se introdujo un alcoholímetro.
- Sólidos totales: Se tomaron tres cápsulas de porcelana y se secaron en horno a 100°C por una hora. Las capsulas se retiraron del horno y se colocaron en una desecadora hasta que alcanzaran temperatura ambiente (25°C). Se pesó

cada una de las cápsulas en una balanza analítica. En una probeta de 25 ml de capacidad, se midieron 25 ml tintura, los cuales se agregaron en cada una de las tres cápsulas. Se llevó a ebullición en baño María hasta sequedad para obtener sólidos totales. Luego las capsulas se retiraron del baño María y se secaron en horno a 100°C durante 6 horas. Las cápsulas se colocaron en una desecadora hasta que alcanzaron temperatura ambiente. Las cápsulas fueron pesadas con los sólidos totales y se determinó la cantidad obtenida con la siguiente formula:

$$\text{Sólidos totales} = \frac{(\text{Peso de cápsula con muestra}) - (\text{Peso de cápsula vacía})}{\text{ml de tintura}}$$

Con los tres datos obtenidos se realizó un promedio el cual es el contenido de sólidos totales de la muestra.

9. Determinación de características microbiológicas

- Conteo aeróbico en placa:

- Bacterias Mesófilas:

Preparación de la muestra: Se midió 1 ml de muestra y se agregaron 9 ml de solución salina al 0.85% p/v, en un tubo de ensayo. La mezcla se agitó hasta obtener una muestra homogénea.

Preparación de diluciones: A partir de la solución homogénea se prepararon tres diluciones. Dilución 1:100: Se tomó 1 ml de la solución y se agregaron 9 ml de solución salina al 0.85% p/v. Dilución 1:1,000: De la dilución 1:100 se midió 1 ml de solución y se agregaron 9 ml de solución salina al 0.85% p/v. Dilución 1:10,000: De la dilución 1:1,000, se midió 1 ml de solución y se agregaron 9 ml de solución salina al 0.85% p/v.

Se colocó 0.1 ml de cada una de las diluciones en tres cajas de Petri estériles de 9 – 10 cm de diámetro, previamente preparadas e incubadas

con agar Plate count. Se incubó a 35 – 37°C durante 5 días. ⁽³⁾ Los resultados se interpretaron según el Anexo D.

○ Mohos y levaduras:

Se colocó 0.1 ml de cada una de las diluciones que se preparó en tres cajas de Petri estériles de 9 – 10 cm de diámetro, previamente preparadas e incubadas con agar Sabouraud. Se incubó a 35 – 37°C durante 5 días. ⁽³⁾ Se interpretaron los resultados según Anexo D.

● Recuento de Enterobacterias

○ Coliformes totales:

Se preparó caldo lactosado según instrucciones del envase. En tubos de ensayo de 20 ml con tapón rosca, se agregaron 9 ml de caldo lactosado y se introdujo una campana de Durham, se prepararon nueve tubos por muestra. Posteriormente se esterilizaron los tubos en autoclave por 15 minutos a 121°C, y se dejaron enfriar. Se midió 1 ml de muestra y se agregaron 9 ml de solución salina al 0.85% p/v. Se colocaron 3 ml de cada una de las diluciones preparadas con anterioridad en tres tubos con agar, 1 ml de muestra a cada uno, iniciando con la dilución 1:100 hasta llegar a la dilución 1:10,000 para obtener nueve tubos. ⁽³⁾ Se interpretaron los resultados según el Anexo E.

○ Coliformes fecales:

Se preparó caldo bilis verde brillante (BVB) según las instrucciones del envase. Se agregaron 9 ml de caldo BVB en un tubo de 20 ml con tapón rosca, y se introdujo una campana de Durham. La cantidad de tubos que se preparó es igual al número de tubos con resultado positivo en la prueba de coliformes totales. Se esterilizaron los tubos en autoclave, por 15 minutos a 121°C y se dejaron enfriar. En una campana limpia y sanitizada con anterioridad, se inocularon los tubos de BVB tomando una asada de cada tubo de caldo lactosado que presentó resultado positivo. Se incubó de 24 a

48 horas en una incubadora a $42 \pm 2^\circ\text{C}$. Se verificó crecimiento bacteriano con producción de gas (burbuja de aire en la campana de Durham), formación de turbidez o precipitado. Los resultados se interpretaron según la tabla de Número Más Probable (NMP). (Anexo 5) A los tubos con resultado positivo se realizó análisis para *E. coli*.⁽³⁾

o Determinación de *E. coli*:

Se preparó caldo EC según las instrucciones del envase. Se agregaron 10 ml de caldo EC en un tubo de 20 ml con tapón rosca y se introdujo una campana de Durham. La cantidad de tubos que se prepararon fué igual al número de tubos con resultado positivo en la prueba de coliformes fecales. Se esterilizaron los tubos en autoclave, por 15 minutos a 121°C y se dejaron enfriar. En una campana limpia y sanitizada con anterioridad se inocularon los tubos de EC tomando una asada de cada tubo de caldo BVB que presentaron resultado positivo. Se incubaron de 24 a 48 horas en una incubadora a $35 \pm 2^\circ\text{C}$. El crecimiento bacteriano se verifica con producción de gas, formación de turbidez o precipitado.

Si existió resultado positivo en los tubos, se inocula una muestra de cada uno, en placas de agar MacConckey. Estas cajas deben incubarse a $43 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 18- 24 horas. El crecimiento de colonias rojas, umbilicadas, generalmente no mucosas, indican la posible presencia de *E. coli*.⁽³⁾

10. Caracterización Fitoquímica

- Marcha fitoquímica para identificación de flavonoides:

Se aplicaron las muestras con un capilar sin heparina en una cromatoplaaca de sílica gel 60 F-254, utilizando como estándares Quercetina, Hiperósido, Ácido clorogénico y Rutina.

Fase móvil: Acetato de etilo – ácido fórmico – ácido acético glacial – agua (100:11:11:27).

Detección: Sin tratamiento químico en luz UV – 254 nm, todos los flavonoides fluorescen azul o amarillo. Luz UV . 365 nm, dependiendo de la estructura los flavonoides fluorescen amarillo, azul o verde. Con tratamiento utilizando Reactivo de Productos Naturales (NP/PEG), se muestra fluorescencia intensa en luz UV – 365 nm. Al aplicar vapores de amoniaco se intensifica la coloración de las manchas.

- Marcha fitoquímica para identificación de cumarinas:

Se aplicaron las muestras con un capilar sin heparina en una cromatoplaque de sílica gel 60 F-254, utilizando como estándar cumarina al 1% en metanol.

Fase móvil: Tolueno – acetato de etilo (93:7)

Detección: Sin tratamiento en luz UV – 254 nm, todas las cumarinas muestran fluorescencia. Sin tratamiento en luz UV – 365 nm, todas las cumarinas muestran intensa fluorescencia azul o azul – verdosa. Con tratamiento utilizando reactivo de Hidróxido de potasio al 5% como revelador, las cumarinas se observan de color azul. ⁽⁵⁾

11. Determinación de la actividad antibacteriana: Prueba de Mitscher *et al.*

Se agregó 1 ml de tintura a 9 ml de agar Muller Hinton fundido a 40°C AMH – T. Se agitó y se vertió en una caja de Petri estéril y se dejó solidificar. Se incubó a 35°C durante 24 horas. Luego se inocularon las bacterias estándar en caldo tripticasa y se incubaron a 35°C durante 24 horas. Se diluyó 1:10 en agua destilada estéril y luego se inocularon por triplicado formando estrías en la caja AMH – T. Se incubaron a 35°C durante 24 horas y leyeron los resultados. Las bacterias utilizadas como control fueron *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *E. coli*; las cuales debían estar inhibidas a la concentración de prueba. ⁽⁵⁾

VIII. RESULTADOS

Para los tres lotes de tintura antibacteriana evaluados, se realizó la medición de las pruebas cuantitativas por triplicado. En las tablas de resultados se reportan los promedios de dichas mediciones a tiempo 0, 90 y 180 días. La Tabla No. 1 muestra la temperatura y las fechas en que fueron realizadas cada una de las mediciones de los parámetros propuestos en la metodología. Los datos de los resultados de las mediciones se describen en el anexo F.

Tabla No. 1
LOTES ANALIZADOS

| LOTE | TEMPERATURA | TIEMPO 0 DÍAS | TIEMPO 90 DÍAS | TIEMPO 180 DÍAS |
|-------------|--------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|
| A | 40 ± 2°C | 28 - 11 - 07 | 28 - 02 - 08 | 01 - 06 - 08 |
| B | 40 ± 2°C | 28 - 11 - 07 | 28 - 02 - 08 | 01 - 06 - 08 |
| C | 40 ± 2°C | 28 - 11 - 07 | 28 - 02 - 08 | 01 - 06 - 08 |

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la Tabla No. 2, se muestran los resultados obtenidos de la evaluación de la estabilidad de los lotes A, B y C; de tintura antibacteriana. Dichos resultados determinaron las características de la tintura, la cual se evaluó mediante pruebas de estabilidad acelerada, utilizando como directrices pruebas para productos farmacéuticos líquidos. La estabilidad de estas características se evaluó durante 180 días a temperatura extrema de $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Las características organolépticas evaluadas, las cuales fueron color y olor, mostraron que los tres lotes evaluados cumplen con las especificaciones para la forma farmacéutica luego de transcurridos 180 días. Se encontró que los parámetros físicos no varían durante el tiempo a excepción de la sedimentación, ya que el lote C presentó sedimentación luego de 180 días almacenado a temperatura extrema, por lo cual no cumple las especificaciones para la preparación.

De las características fisicoquímicas, se encontró que los valores de pH, densidad relativa y sólidos totales, no muestran una desviación significativa de los valores especificados y los resultados obtenidos se encuentran dentro de los rangos permitidos, por lo que cumple para la especificación luego de 180 días de evaluación. En cuanto a los valores obtenidos del porcentaje alcohólico, se puede ver que desde el inicio de la medición los valores no cumplen con las especificaciones, ya que estos se encuentran por debajo del valor mínimo permitido y en cada una de las mediciones se mostro una desviación mayor a 1, lo cual significa después de cada tiempo de medición se perdió más del 1% de alcohol en las muestras. Esta disminución pudo haberse evitado si en el proceso de manufactura, luego de la percolación se hubiera ajustado el porcentaje de alcohol hasta lograr que quedara dentro de lo permitido. Es importante mencionar que el método utilizado para la medición puede presentar un porcentaje de error alto, ya que se mide el porcentaje alcohólico por medio de flotación y el resultado obtenido depende de la apreciación del experimentador, por lo que debería realizarse la medición de este parámetro por el Método de Karl Fisher, para determinar cuantitativamente este valor.

Luego de la evaluación de las características microbiológicas, se pudo determinar que la tintura mantuvo su asepsia durante el tiempo, por lo que es apta para el consumo humano. La identificación fitoquímica de cumarinas y flavonoides, es importante ya que los compuestos flavonoides quercetínicos como la guayaberina presentes en *P. guajava*, los glicosidos flavonoides de *G. stramineum*, las cumarinas de *P. major* y el α – tertienilo y herniarina de *T. lucida*; le confieren a la tintura la actividad antibacteriana, es por esto que se identificaron estos compuestos como indicadores de estabilidad.⁽⁴⁾ Se determinó cualitativamente que, aunque la temperatura a la que se sometió la tintura fue extrema, de $40 \pm 2^\circ\text{C}$, dichos grupos no desaparecen y que aunque son termolábiles, a dicha temperatura no alcanzan la descomposición, por lo que serian sustancias elegibles como indicadores numéricos de estabilidad si se les cuantifica. En cuanto al parámetro de humedad, las referencias no indican si esta puede causar descomposición en los metabolitos activos, pero en este estudio no se tomó en cuenta debido a que el producto es una preparación líquida, para la cual no se ha reglamentado que deba alterarse este parámetro.⁽⁶⁾

Se determinó también, luego de realizar bioensayos, que la actividad de la tintura no se mantiene durante el tiempo de medición, ya que luego de los 180 días de medición los 3 lotes inhiben el crecimiento únicamente de *S. auerus* y el lote C muestra inhibición además para *B. subtilis* y *P. aeruginosa*.

La variación en los resultados de estabilidad acelerada de los tres lotes de tintura con propiedad antibacteriana analizados, puede deberse a varios factores como lo son la época de cosecha de los lotes de las plantas utilizadas en la manufactura, ya que cada planta tiene una época del año en la que presenta su mayor cantidad de metabolitos activos. Por este motivo puede explicarse la aparición de sedimentación y la inhibición de *B. subtilis* y *P. aeruginosa* en el lote C.

Luego de la evaluación de los tres lotes de tintura antibacteriana se puede determinar que, para que el producto mantenga la estabilidad de sus características

fisicoquímicas, microbiológicas, fitoquímicas y su actividad contra bacterias, es indispensable que se controlen todos los procesos involucrados en la producción del producto, como lo son las Buenas Prácticas Agrícolas y las Buenas Prácticas de Manufactura para que los lotes producidos sean reproducibles y que el producto mantenga su acción terapéutica durante el tiempo asignado para su expiración.

Las características organolépticas, fisicoquímicas, microbiológicas y de potencia de la actividad antibacteriana de la tintura preparada a partir de *G. stramineum*, *P. major*, *P. guajava* y *T. lucida*, en solución alcohólica al 35%, no se mantienen al variar las condiciones normales de almacenamiento. Es por esto que debe establecerse por medio de un estudio de estabilidad a largo plazo (estabilidad en anaquel), el tiempo de vida útil del producto, controlando factores que puedan disminuir la actividad del producto como lo son el material de empaque, el almacenamiento del producto, la distribución y la zona climática de los lugares en donde ha de comercializarse el producto.

X. CONCLUSIONES

1. La metodología de análisis de estabilidad para productos obtenidos por síntesis química, que se planteó para la evaluación de la estabilidad acelerada de la tintura con propiedades antibacterianas, preparada a partir de plantas medicinales, determinó las características y los parámetros de calidad para la evaluación del producto.
2. Las características fisicoquímicas evaluadas para la tintura con propiedades antibacterianas cumplen con las especificaciones de calidad para la forma farmacéutica con excepción del porcentaje alcohólico, que se mantuvo por debajo de los rangos aceptados.
3. El porcentaje alcohólico en los tres lotes de tintura con propiedades antibacterianas evaluados no cumplió con las especificaciones permitidas desde el tiempo 0 días y luego se encontró, que este valor disminuyó en más del 1% luego de cada medición, por lo que debe utilizarse el método de Karl Fisher para determinar cuantitativamente este parámetro, para disminuir el alto porcentaje de error que se obtiene por el método de flotación.
4. Las características microbiológicas de los tres lotes de tintura analizados no se ven afectados por las condiciones extremas de temperatura a la que fueron sometidos.
5. Los tres lotes de tintura antibacteriana analizados mantienen la presencia de sus metabolitos activos luego de 180 días de almacenamiento en condiciones extremas de temperatura.
6. Los lotes A, B y C, inhiben el crecimiento de *S. aureus*, luego de 180 días de almacenamiento en condiciones extremas de temperatura.
7. El lote C, inhibe el crecimiento de *B. subtilis* y *P. aeruginosa*, luego de 180 días de almacenamiento en condiciones extremas de temperatura.
8. La época de cosecha de las plantas utilizadas en la producción de tintura con propiedades antibacterianas es un factor importante para la reproducibilidad de los lotes del producto, ya que determina la cantidad máxima o mínima de

metabolitos activos, los cuales le confieren la actividad antibacteriana a la tintura.

9. Las características organolépticas, fisicoquímicas, microbiológicas y de potencia de la actividad antibacteriana de la tintura preparada a partir de *Gnaphalium stramineum* HBK (flores), *Plantago major* L (hoja), *Psidium guajava* L (hoja) y *Tagetes lucida* Cav. (hoja y flor), en solución alcohólica al 35%, no se mantienen al variar las condiciones normales de almacenamiento.

XI. RECOMENDACIONES

1. Agrícolas, para determinar el tiempo óptimo de cosecha de cada planta utilizada en la producción de tintura con propiedades antibacterianas.
2. Mejorar las Buenas Prácticas de Manufactura del producto, para obtener lotes reproducibles tanto en sus características fisicoquímicas, microbiológicas y fitoquímicas, como en la actividad contra bacterias.
3. Ajustar el porcentaje alcohólico luego de la extracción por percolación de los metabolitos activos, para asegurar que el producto cumple con las especificaciones de calidad para la forma farmacéutica y realizar la medición de este parámetro cuantitativamente por el método de Karl Fisher.
4. Realizar el estudio de estabilidad del producto terminado a condiciones reales de almacenamiento, para respaldar los resultados del estudio de estabilidad acelerada y determinar el tiempo exacto de vida útil.
5. Utilizar cámaras de estabilidad para la realización de estudios de estabilidad acelerada a fin de establecer la influencia de la humedad en dicho proceso.
6. Identificar y cuantificar metabolitos secundarios en los productos fitofarmacéuticos, para que sirvan como indicadores para establecer de forma numérica la estabilidad de los mismos.
7. Realizar ensayos *in vitro* con diferentes concentraciones de la tintura antibacteriana, para determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC), a la cuál pueden ser inhibidas las bacterias evaluadas.

XII. REFERENCIAS

1. Reglamento Técnico Centroamericano. COMIECO XXXIII. Productos Farmacéuticos. Estudios de Estabilidad para uso Humano. Anexo. Resolución No. 148-2005. ICS 11.120.10. Editado por: Comisión Guatemalteca de Normas, COGUANOR. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACYT. Ministerio de Fomento, Industria y Comercio, MIFIC. Secretaría de Industria y Comercio, SIC. Ministerio de Economía, Industria y Comercio, MEIC. Págs. 1-5.
2. The United States Pharmacopoeia Convention. 2007. Farmacopea de los Estados Unidos de América, Formulario Nacional. USP Trigésima edición, NF Vigésimoquinta edición. Edición anual en español. USA. Volumen 1. 1364p.
3. Samayoa, B. *et al.* 1996. Manual de Prácticas de Control de Calidad Microbiológico de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos - USAC. Pág.13-24.
4. Sólis, P. De Solis, N. Gattuso, S. Cáceres, A. Manual de Caracterización y Análisis de Drogas Vegetales y Productos Fitoterapéuticos. Proyecto de Desarrollo y Tecnología de Cultivo de Plantas Medicinales y Producción de Fitoterápicos. OEA/AICD/AE 089/03. Pág.49.
5. Medinilla Aldana, Beatriz Eugenia. 1999. Manual de Laboratorio de Fitoquímica. USAC. Pág.19.
6. Morton JF. 1981. Atlas of Medicinal Plants of Middle America. Charles C. Thomas, Springfield. 1420 p.
7. House PR. *et al.* 1995. Plantas Medicinales Comunes de Honduras. Tegucigalpa. UNAH-CIMN-CIMN-CID/CIIR-GTZ. 555 p.
8. Cáceres A. 1996. Platas de Uso Medicinal en Guatemala. Guatemala. Editorial Universitaria. 402 p.
9. Cáceres A *et al.* 1991. Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases 1. Screening of 68 plants against gram positive bacteria. J. Ethnopharmacol. 31:193-208.
10. Cáceres A *et al.* 1990. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders 1. Screening of 84 plants against enterobacteria. J Ethnopharmacol. 30:55-73.

11. Rastrelli L *et al.* 1996. Actividad antiinflamatoria de *Gnaphalium stramineum* HBK (sanalotodo). Rev Cient. 11: 33-36.
12. Duke JA. 1985. CRC Handbook of Medicinal Herbs. Boca Raton. CRC Press. 677 p.
13. Nelsol CL. 1986. Plantas Comunes de Honduras. Tegucigalpa. Ed. Universitaria. 922 p.
14. Martínez M. 1992. Plantas Medicinales de México. México. Ed. Botas. 656 p.
15. Font Quer P. 1976. Plantas Medicinales. Barcelona. Ed. Labor. 1033 p.
16. Samuelsen AB. 2000. The traditional use, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A. review J Ethnopharmacol. 71:1-21.
17. Cáceres A *et al.* 1987. Screening of antimicrobial activity of plants popularly used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal diseases. J Ethnopharmacol. 20: 223-237.
18. Herrera VA. 1985. Determinación de la acción antibacteriana del género *Plantago* usado para el tratamiento de piodermias (Tesis). Guatemala. Fac. de CCQQ y Farmacia. USAC.
19. Lewis D.A. 1989. Anti – inflammatory Drugs from Plants and Marine Sources. Basel, Birkhäuser Verlag. 373 p.
20. Yesilada E *et al.* 1993. Screening of some Turkish medicinal plants for their antiulcerogenic activities. Phytother Res. 7:263-265.
21. Basaran AA *et al.* 1997. Immunomodulatory activities of some Turkish medicinal plants. Phytother. Res. 11:609-611.
22. Guillen MEN *et al.* 1997. Analgesic and antiinflammatory activities of the aqueous extract of *Plantago major* L. Internat. J. Pharmacog. 35:99-104.
23. Ikram M, Fazal Hussain S. 1978. Compendium of Medicinal Plants. Pashawar. PCS&IR. 167 p.
24. Alonso J. 1998. Tratado de Fitomedicina. Buenos Aires. ISIS ediciones. 1039 p.
25. Mena Guerrero MG. 1994. Obtención y Aprovechamiento de Extractos Vegetales de la Flora Salvadoreña. San Salvador. Editorial Universitaria. 563 p.
26. Germosen – Robineau L. 1997. Farmacopea Vegetal Caribeña. Fort-de-France. Editorial Emile Desormeaux. 360 p.

27. Cañigueral S *et al.* 1998. Plantas Medicinales y Drogas Vegetales. Milán. OEMF Internacional. 606 p.
28. Glasby JS. 1991. Dictionary of Plant Containing Secondary Metabolites. London. Taylor & Francis. 488 p.
29. Morton J.F. 1987. Fruits of Warm Climates. Greensboro. Media Inc. 505 p.
30. Ayensu ES. 1981. Medicinal Plants of the West Indies. Algonac. Reference Publications. 282 p.
31. Linares E *et al.* 1988. Selección de Plantas Medicinales de México. México. Ed. Limusa. 125 p.
32. Girón LM *et al.* 1991. Ethnobotanical survey of the medicinal flora used by the Caribs of Guatemala. J. Ethnopharmacol. 34:173-187.
33. Orellana SL. 1987. Indian Medicine in Highland Guatemala. Albuquerque. Univ. of New Mexico. Press. 309 p.
34. Jiménez CA *et al.* 1979. Contribución a la evaluación biológica de plantas cubanas. II. Rev. Cubana Med. Trop. 31:13-19.
35. Jaiarj P *et al.* 1999. Anticough and antimicrobial activities of *Psidium guajava* Linn, leaf extract J. Ethnopharmacol. 67:203-212.
36. Cáceres A *et al.* 1993. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders 3. Confirmation of activity against enterobacterias of 16 plants. J. Ethnopharmacol. 38:31-38.
37. Cáceres A *et al.* 1993. Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases 2. Evaluation of activity of 16 plants against Gram – positive bacteria. J Ethnopharmacol. 39:77-82.
38. Lazoya X *et al.* 1990. Spasmolytic effect of methanolic extract of *Psidium guajava*. Biol. Chem. Active Natural Subs Bonn. 205 p.
39. Lazoya X *et al.* 1990. Modelo de perfusión intraluminal de ileon de cobayo in vitro en el estudio de las propiedades antidiarréicas de la guayaba (*Psidium guajava*). Arch. Invest. Med. 21:155-162.
40. Lutterodt GD. 1992. Inhibition of Microlax – induced experimental diarrhoea with narcotic – like extracts of *Psidium guajava* leaf in rats. J. Ethnopharmacol. 37:151-157.

41. Olajide OA *et al.* 1999. Pharmacological studies on the leaf of *Psidium guajava*. *J. Ethnopharmacol.* 70:25-31.
42. Zolla C *et al.* 1988. *Medicina tradicional y enfermedad*. México. CEISS. 1456 p.
43. Berdy J *et al.* 1982. *Handbook of Antibiotic Compounds*. Vol.VIII, Parts 1, 410 p, and 2, 429 p. Boca Raton, CRC Press.
44. Oliver-Bever B. 1986. *Medicinal Plants in Tropical West Africa*. Cambridge, Cambridge Univ. Press. 134 p.
45. Lutterodt GD. 1989. Inhibition of gastrointestinal release of acetylcholine by quercetin as a possible mode of action of *Psidium guajava* leaf extracts in the treatment of acute diarrhoeal disease. *J. Ethnopharmacol.* 25:235-247.
46. Aguilar JI. 1966. Relación de unos Aspectos de la Flora Útil de Guatemala. *Guatemala. Anthopos.* 68:537-547.
47. Logan MH. 1973. Digestive disorders and plant medicinals in Highland Guatemala *Anthopos.* 68:537-547.
48. Valle AL. 1989. Inhibición de la infección por *Shigella dysenteriae* 1 en cornea de cobayo, por extractos de hojas de *Psidium guajava*, *Spondias purpurea* y *Tagetes lucida* (Tesis). Guatemala. Fac. CCQQ y Farmacia. USAC. 32 p.
49. Marroquín E. 1981. Contribución al estudio farmacológico de *Tagetes lucida* (Pericón) como antiespasmódico (Tesis). Guatemala. Fac. de CCQQ y Farmacia. USAC.
50. Ortiz SD. 1989. Elucidación del principio activo antiespasmódico en el extracto n-hexano del pericón (*Tagetes lucida* Cav). *Rev. Cient. Fac. CCQQ y Farm.* 7:9-11.
51. Lopez FJ *et al.* 1990. *Tagetes lucida* Cav I. Inhibitory effect on smooth muscle contractility. *Phyton.* 51:71-76.
52. Cortes AR *et al.* 1990. *Tagetes lucida* Cav II. Anticholinergic effect on skeletal muscle and heart of rat. *Phyton.* 51:77-82.
53. Rodriguez E. Mabry TJ. 1975. *Tagetes* chemical review. *Biol. Chem. Compos.* 2: 785.
54. Sharapin, Nikolai. 2000. *Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos*. Convenio Andrés Bello. Santafé de Bogotá, Colombia. Pp. 39.

X. ANEXOS

A. INFORMACIÓN DE LOS COMPONENTES, CLASIFICACIÓN, ACCIÓN FARMACOLÓGICA Y TERAPÉUTICA

1. *Gnaphallium stramineum* HBK (Sanalotodo). (Se usa también *Gnaphallium viscosum* HBK).

a) Descripción y propiedades medicinales:

Plantas de la familia Asteraceae nativas de Guatemala, en donde tienen un amplio uso medicinal, su distribución geográfica es restringida y su producción es por recolección en áreas bajo manejo en el altiplano del país. Como su nombre lo indica, en Guatemala se le utiliza para el tratamiento de múltiples enfermedades principalmente afecciones respiratorias y gastrointestinales ^(6,8). Se le atribuyen propiedades antibacterianas, antidiarréicas, antitusivas y expectorantes ^(7,8).

b) Información farmacológica y toxicológica:

Estudios antibacterianos demuestran que la tintura de flores de *G. viscosum* posee actividad contra bacterias Grampositivo (*Streptococcus pneumoniae* y *S. pyogenes*) ⁽⁹⁾ y Gramnegativo (*Salmonella typhi* y *Shigella flexneri*) ⁽¹⁰⁾. Otras especies del género, usadas indistintamente en Guatemala, también ha demostrado actividad contra bacterias Grampositivo como *G. brachypterum*, *G. Satramineum* y *G. stolonatum* ⁽⁸⁾. La administración orogástrica de la infusión de flores de *G. stramineum* inhibe la inflamación inducida por carrigenina en ratas a dosis de 750 mg/kg, pero las hojas no tienen el efecto aun en dosis de 1g/kg ⁽¹¹⁾, la actividad se atribuye a derivados del ácido cafeoilquinico y glicósidos flavonoides que posiblemente tienen una acción sinérgica ⁽¹²⁾.

c) Composición química:

La composición química no ha sido suficientemente estudiada, aunque puede asegurarse que las flores contienen compuestos fenólicos y flavonoides ^(8,12).

2. *Plantano major* L. (Llantén, Raq' tzi):

a) Descripción y propiedades medicinales

Pequeña planta cosmopolita de la familia Plantaginaceae que tiene un amplio uso medicinal en todo el mundo y su producción puede ser por recolección o por cultivo. Su principal uso medicinal es para el tratamiento de afecciones e inflamaciones particularmente digestivas, respiratorias y dérmicas. ^(12- 15). Se le atribuye propiedad antibacteriana, antidiarréica, antiinflamatoria, antioxidante, antiséptica, cicatrizante, emoliente, febrífuga, inmunomoduladora, pectoral y vulneraria ^(8,16,17).

b) Información farmacológica y toxicológica:

El extracto alcohólico tiene propiedades antibacterinas *in vitro*, particularmente contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* que son agentes causales de piodermia ⁽¹⁸⁾ y contra *S. typhi* y *Shigella dysenteriae* ⁽¹⁰⁾ que son causales de fiebre tifoidea, diarrea y disenteria. En un modulo experimental de piodermia por *S. aureus* en ratas albinas se demostró que las lesiones tratadas con extractos etanólicos sanan más rápidamente que los controles ⁽¹⁹⁾. El plantaglucósido es una preparación de pectina que tiene actividad antiulcerogénica en ratas e inhibe el edema por dextrano o ácido fórmico ⁽²⁰⁾; la cumarina de las hojas tiene actividad antiulcerogénica en la ulcera inducida por estrés de inmersión en ratas ⁽²¹⁾. El extracto de las hojas tiene actividad quemoatóctica en neutrófilos, pero no aumenta la muerte intracelular por la prueba de azul de tetrazoilo ⁽²²⁾. La actividad antiinflamatoria se ha demostrado por reducción del edema podal por carragenina, inhibición de la formación de exudado del retorcimiento por ácido acético ^(17,23). Los extractos acuosos de hojas se han usado exitosamente en el tratamiento clínico de úlcera gástrica (1.5 – 3.0 g/día) ⁽¹⁹⁾ y de hemorroides ⁽²⁵⁾. Los extractos acuoso y etanólico no son tóxicos a peces del genero *Mollinesia* ⁽²⁶⁾. El extracto acuoso no presenta toxicidad por administración oral intraperitoneal ⁽¹⁷⁾, el plantaglucósido no es tóxico ⁽²⁰⁾. La DL₅₀ del extracto acuoso en ratas por vía intravenosa es de 175 mg/kg, las hojas incorporadas en 40% a la dieta del ratón

infante no es nefrotóxica, la administración oral para aplicaciones estomatológicas (hasta 50 g/L) en humanos no produce manifestaciones de toxicidad o intolerancia ⁽²⁷⁾. Algunos datos son contradictorios, pero puede asegurarse que el extracto acuoso no presenta genotoxicidad evaluada por la prueba de Ames o por la segregación somática de *Aspergillus nidulans* D-30 ⁽¹⁷⁾. Es una hierba clasificada por la FDA como de seguridad no definida ⁽¹³⁾.

c) Composición química:

Toda la planta contiene glucósidos (aucubina o rhinantina y catalpol), cumarinas (plantaglucósido), alcaloides, flavonoides, derivados del ácido 14 – hidroxicinnámico, polifenoles (baicaleina, scutelareina), enzimas (invertina, emulsina), mucilago y sales orgánicas y minerales ^(28, 29). Las semillas son ricas en aucubina, colina, pectina, taninos, grasa y mucilago ^(8,25).

3. *Psidium guajava* L. (Guayaba)

a) Descripción y propiedades medicinales:

Árbol de la familia Myrtaceae autóctono del sur de México y Centro América, su distribución geográfica es amplia en el continente y su producción es por recolección y cultivo de zonas cálidas y templadas, principalmente por su fruto, del cual se han desarrollado más de 60 variedades comerciales ⁽³⁰⁾. Su principal uso medicinal es para el tratamiento de afecciones gastrointestinales, respiratorias y dermatomucosas ^(5,7,15,31-33). Se le atribuye propiedad antidiarréica, antiespasmódica, astringente, digestiva, emenagoga, hemostática, sedante, vermífuga y vulneraria ^(5,8,27,34). La tintura de las hojas se usa para fricciones en los niños, con fines cicatrizantes ⁽³⁰⁾.

b) Información farmacológica y toxicológica:

Por su alto contenido de taninos y su actividad astringente es efectiva en el tratamiento de diarrea y espasmo abdominal ^(5,34). La tintura ha demostrado actividad contra *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. typhi*, *S. flexieri*, *S.*

penumoniae y *S. aureus* ^(9,10,35 - 38). En un modelo en ratón se demostró que disminuye significativamente el tránsito intestinal con una relación dosis – efecto ⁽²⁷⁾; los glicósidos de quercetina tienen actividad espasmolítica e inhibitoria de la peristalsis ⁽³⁹⁾ y presentan una clara reducción en la amplitud de la respuesta muscular al profundirse intraluminalmente el ileon de cobayo en relación dosis – respuesta ⁽⁴⁰⁾, actividad que se ha confirmado en otros modelos de hiperpropulsión del tránsito en el intestino delgado de ratas, actuando por un mecanismo de inhibición del aumento de las secreciones acuosas ⁽⁴¹⁾. El extracto metabólico inhibe el edema podal inducido por carragenina en la rata ⁽⁴²⁾. Estudios clínicos para comparar la actividad antidiarréica con caolin y pectina demuestran que los tratamientos son similares ⁽⁴³⁾.

La actividad antibacteriana se atribuye a la guayaverina (avicularina), flaonas y ácido guayabólico; la actividad antiprotozoárica al ácido psidiólico ^(44,45). La actividad antiinflamatoria es producida por el aceite esencial y los flavonoides ⁽⁴²⁾. La actividad antidiarréica se atribuye a la guayaverina y otras quercetinas, que han demostrado una definitiva acción antisecretoria en la liberación de acetilcolina (ACh), efecto que no es reversible por la naloxona. Este efecto se debe al bloqueo de los canales de calcio o a la inhibición del sistema enzimático responsable de la síntesis de prostaglandinas, que a su vez se relaciona con la liberación de ACh; el extracto etanólico muestra una inhibición de la liberación de la ACh similar a la producida por morfina ⁽⁴⁶⁾.

La infusión de corteza y hojas ensayadas separadamente en ratones por vía oral en dosis de 1 – 5 g / kg no presenta toxicidad aguda ⁽⁸⁾. El extracto metabólico (5 mg / placa) tiene actividad antimutagénica contra la toxicidad inducida por radiación ultravioleta y diversos mutágenos ⁽²⁷⁾.

c) Composición química:

Toda la planta es rica en taninos (hojas 9 – 12 %; corteza 26 – 32 %) ⁽⁴⁷⁾. Las hojas contienen β – sistosterol y ácido maslínico. El aceite esencial contiene hidrocarburos sesquiterpénicos (aromadenderno, β – sistosterol, cariofileno, cinel, nerelidol, β – selineno y sel – 11 – en – 4 α - ol), triterpenoides (ácidos oleanólico,

ursólico, cratególico y guayabólico), flavonoides (derivados de quercetina, guayaverina, glicósido de 3 – α – L – arabopiranosido y quercetin 3 – arabinósido), glicósido del ácido elágico, leucocianidina y derivados del ácido gálico ^(12,27,34).

4. *Tagetes lucida* Cav. (Pericón, Iyá, Hierbanis)

a) Descripción y propiedades medicinales

Planta de la familia Asteraceae nativa de Mesoamérica. Tiene una amplia distribución y uso medicinal, saborizante culinario y religioso en toda la región. Su producción es por recolección en áreas bajo manejo o cultivo en el altiplano ⁽⁸⁾. Su uso medicinal está muy difundido en toda la población, principalmente la infusión de hojas y flores para el tratamiento de la diarrea y dolor de estómago ^(7,12,47). Se le atribuye propiedad antiespasmódica, antiséptica, antibacteriana, antidiarréica, carminativa, desinflamante, digestiva y febrífuga ^(8,12,15).

b) Información farmacológica y toxicológica

La infusión y tintura de hojas y flores tiene actividad contra las bacterias causales de diarrea ⁽¹⁰⁾ e infección respiratoria ⁽⁹⁾. En un modelo *in vivo*, se demostró que la pomada a base de la tintura inhibe el crecimiento de *S. dysenteriae* en la cornea del cobayo y disminuye los días en que cura la queratoconjuntivitis experimental ⁽⁴⁹⁾. La actividad antibiótica se atribuye al α – tertienilo que se ha descrito en varias especies de tagetes y a la herniarina ⁽⁴⁴⁾. El extracto acuoso tiene actividad espasmolítica evaluada en un modelo *in vivo* usando duodeno de rata aislado, con DE₅₀ en ratón de 500 mg / ml *in vitro* y 20 g / kg *in vivo* ⁽⁵⁰⁾; la estructura química responsable es la herniarina ⁽⁴⁹⁾. Resultados similares se obtuvieron en músculo liso de yeyuno de conejo ⁽⁵¹⁾ y actividad anticolinérgica en músculo esquelético y cardiaco de rata ⁽⁴⁹⁾. Los taninos y pectina son responsables de la actividad antidiarreico ⁽³⁴⁾.

c) Composición química:

Las hojas y flores contienen aceite esencial (limoneno, β – ocimeno, β – cariofileno, mirceno, acetol, alilanol, esdragol, éter metílico de eugenol, tagetona, dihidrotagetona, linalool (52)), alcaloides cuaternarios, cumarinas (dimetilalileter de 7 – hidroxycumarina, 7 – metoxicumarina y 6,7,8 – tremetoxicumarina), flavonoides (quercetagerina, patuletina), derivados de tiofeno, α – tertienilo, saponinas, leucoantocianinas, resinas, taninos, goma y sales minerales ^(15,29,53).

B. ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO TERMINADO

| Prueba | Especificación |
|--------------------------|------------------------------------------------|
| Apariencia | Líquido transparente o ligeramente opalescente |
| Color | Ámbar a ámbar oscuro |
| Olor | Característico alcohólico |
| pH | 5.0 – 6.0 |
| Densidad relativa (25°C) | 0.960 – 0.990 |

Fuente: monografía registro sanitario de producto terminado

| Envase | Especificación |
|-----------|---------------------------------|
| Capacidad | 120 ml |
| Material | Vidrio |
| Color | Ámbar oscuro |
| Tapadera | Baquelita plástica color blanco |

Fuente: monografía registro sanitario de producto terminado

C. CONDICIONES PARA REALIZAR ESTUDIOS ACELERADOS DE ESTABILIDAD

Se aplica para el registro de un medicamento o modificaciones a las condiciones de registro; se deben llevar a cabo en tres lotes de producción con la formulación y el material de empaque / envase primario sometido a registro. ⁽²⁾

| Condiciones del Estudio de Estabilidad Sustancias que no requieren refrigeración ni congelación Tiempo 6 meses (180 días) | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
| CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO | ANÁLISIS |
| 40 °C \pm 2 °C con 75 % \pm 5% de humedad relativa para formas farmacéuticas sólidas | Inicial 90 días 180 días |
| 40 °C \pm 2 °C para formas farmacéuticas líquidas y semisólidas | Inicial 90 días 180 días |
| 40 °C \pm 2 °C para todas las demás formas farmacéuticas | Inicial 180 días |

(2)

D. CONTEO AERÓBICO EN PLACA, MOHOS Y LEVADURAS

1. Cálculos:

Cajas sin crecimiento bacteriano: El resultado se expresa como menor de la dilución más baja sembrada (3).

$$\begin{array}{r} \text{Ej:} \quad 1:10 \quad \quad 1:100 \\ \quad \quad 0 \quad \quad \quad 0 \quad \quad = \quad .10 \text{ UFC/gr ó ml} \\ \quad \quad 0 \quad \quad \quad 0 \end{array}$$

Cajas con menos de 25 colonias: Tomar la dilución menor y reportar como recuento aeróbico en placa estimado; o tomar como 25 veces la dilución menor donde aparecen colonias⁽³⁾.

$$\begin{array}{r} \text{Ej:} \quad \mathbf{1:10} \quad \quad 1:100 \\ \quad \quad 15 \quad \quad \quad 3 \quad \quad = \quad \mathbf{250 \text{ UFC/gr ó ml}} \\ \quad \quad 0 \quad \quad \quad 0 \end{array}$$

Cajas entre 25 y 250 colonias: El conteo final se obtiene aplicando la siguiente fórmula:

$$N = \frac{\text{Sumatoria de Colonias}}{[(1*NCdb) + (0.1*NCda)]} * FD$$

N: Número de colonias por g o ml de muestra.

NCdb: Número de cajas contadas de la dilución más baja.

NCda: Número de cajas contadas de la dilución siguiente más alta.

FD: Factor de dilución menor contada.

$$\begin{array}{r} \text{Ej:} \quad 1:100 \quad \quad 1:1000 \\ \quad \quad 232 \quad \quad \quad 33 \\ \quad \quad 244 \quad \quad \quad 28 \end{array}$$

$$\frac{232+244+33+28}{[(1*2) + (0.1*2)]} * 100 = 24,409 = \mathbf{24,000 \text{ UFC/gr ó ml}}$$

NOTA: Cuando los conteos de uno de los duplicados está fuera de ambos límites (25-250), tome en cuenta sólo los que están dentro de los establecidos ⁽³⁾.

Todas las cajas tienen más de 250 colonias

Se seleccionan los duplicados de la dilución con el conteo más cercano a 250.

Si hay menos de 10 colonias por cada cuadro del contador

Si hay menos de 10 colonias por cada cuadro del contador de colonias (cada cuadro mide 1 cm²), seleccione 12 cuadros (seis horizontales y seis verticales). Si hay más de 10 colonias por cuadro, entonces se cuentan solo 4 cuadros. En ambos casos debe obtenerse el promedio de colonias por cm². Este resultado se multiplica por el área de la caja y por el factor de dilución y se informa como recuento estimado, el cual se indica con un asterisco (*). El diámetro interno de las de tamaños estándar varía, por lo que el área puede ser ⁽³⁾:

65 cm (9 cm de diámetro interno)

57 cm (8.5 cm de diámetro interno)

Ejemplo:

Cada cm² tiene más de 10 colonias:

$$\text{Promedio} = 15+16+18+15 = 64/4 = 16$$

$$\text{RE} = 16 * 57 \text{ a} * 100\text{b} = 91,200 \text{ UFC/g-ml}$$

RE = Recuento estimado

a = Área de la caja

b = Factor de dilución

Cajas con crecimiento excesivo: El conteo excede de 100 colonias por cm² o es Muy Numeroso Para Contar (MNPC). Se informa como recuento estimado y como mayor de 5700 UFC ⁽³⁾.

Ej: 1:1000 1:10000

MNPC MNPC

$$100 a * 57b * 10000c = \mathbf{5,700,000 \text{ UFC/gr ó ml}}$$

MNPC = Muy Numeroso Para Contar**a = Colonias****b = Área de la caja****c = Factor de dilución mayor****E. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

- Coliformes totales:

La presencia de Coliformes totales indica que la contaminación de la muestra se debe al proceso que ha llevado desde el inicio, como malas condiciones de secado, almacenamiento, aire, humedad así contaminación por animales, insectos y agua ⁽³⁾.

| Muestra | 1: 100 | 1:1000 | 1:10000 | Resultado (NMP/g-ml) |
|---------|--------|--------|---------|----------------------|
| XX | 0 | 0 | 0 | Xx |

(3)

- Coliformes fecales:

La presencia de Coliformes fecales indica contaminación fecal proveniente del riego con aguas negras y puede haber potencialmente la presencia de microorganismos patógenos ⁽³⁾.

| Muestra | 1: 100 | 1:1000 | 1:10000 | Resultado (NMP/g-ml) |
|---------|--------|--------|---------|----------------------|
| XX | 0 | 0 | 0 | Xx |

(3)

NÚMERO MÁS PROBABLE (NMP)

| Combinación de tubos positivos | NMP por g ó ml |
|--------------------------------|----------------|
| 0-0-0 | < 3 |
| 0-0-1 | 3 |
| 0-1-0 | 3 |
| 0-2-0 | 3 |
| 1-0-0 | 4 |
| 1-0-1 | 7 |
| 1-1-0 | 7 |
| 1-1-1 | 11 |
| 1-2-0 | 11 |
| 2-0-0 | 9 |
| 2-0-1 | 14 |
| 2-1-0 | 15 |
| 2-1-1 | 20 |
| 2-2-0 | 21 |
| 2-2-1 | 28 |
| 2-3-0 | 12 |
| 3-0-0 | 23 |
| 3-0-1 | 39 |
| 3-0-2 | 64 |
| 3-1-0 | 43 |
| 3-1-1 | 75 |
| 3-1-2 | 120 |
| 3-2-0 | 93 |
| 3-2-1 | 150 |
| 3-2-2 | 210 |
| 3-3-0 | 240 |
| 3-3-1 | 460 |
| 3-3-2 | 1100 |
| 3-3-3 | 2400 |

(3)

- ***Escherichia coli:***

E. coli se presenta como un microorganismo enteropatógeno. El producto es aceptado cuando no presenta crecimiento microbiológico ⁽³⁾.

| Muestra | Resultado |
|---------|---------------------|
| XX | Positivo o Negativo |

(3)

F. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS CUANTITATIVAS

Tabla No. 1
pH MUESTRA A

| TIEMPO DE MEDICIÓN | MEDICIÓN | RESULTADO | PROMEDIO | DESVIACIÓN ESTÁNDAR |
|----------------------------|----------|-----------|-------------|---------------------|
| 0 días | 1 | 5.40 | 5.41 | 0.01 |
| | 2 | 5.41 | | |
| | 3 | 5.43 | | |
| 90 días | 1 | 5.60 | 5.59 | 0.01 |
| | 2 | 5.58 | | |
| | 3 | 5.59 | | |
| 180 días | 1 | 5.55 | 5.53 | 0.01 |
| | 2 | 5.52 | | |
| | 3 | 5.54 | | |
| PROMEDIO | | | 5.51 | |
| DESVIACIÓN ESTÁNDAR | | | 0.09 | |

Tabla No. 2
pH MUESTRA B

| TIEMPO DE MEDICIÓN | MEDICIÓN | RESULTADO | PROMEDIO | DESVIACIÓN ESTÁNDAR |
|----------------------------|----------|-----------|-------------|---------------------|
| 0 días | 1 | 5.60 | 5.62 | 0.02 |
| | 2 | 5.64 | | |
| | 3 | 5.63 | | |
| 90 días | 1 | 5.58 | 5.56 | 0.01 |
| | 2 | 5.56 | | |
| | 3 | 5.56 | | |
| 180 días | 1 | 5.37 | 5.35 | 0.02 |
| | 2 | 5.33 | | |
| | 3 | 5.36 | | |
| PROMEDIO | | | 5.51 | |
| DESVIACIÓN ESTÁNDAR | | | 0.14 | |

Tabla No. 3
pH MUESTRA C

| TIEMPO DE MEDICIÓN | MEDICIÓN | RESULTADO | PROMEDIO | DESVIACIÓN ESTÁNDAR |
|----------------------------|-----------------|------------------|-----------------|----------------------------|
| 0 días | 1 | 5.55 | 5.53 | 0.01 |
| | 2 | 5.52 | | |
| | 3 | 5.54 | | |
| 90 días | 1 | 5.37 | 5.35 | 0.02 |
| | 2 | 5.33 | | |
| | 3 | 5.36 | | |
| 180 días | 1 | 5.40 | 5.41 | 0.01 |
| | 2 | 5.43 | | |
| | 3 | 5.41 | | |
| PROMEDIO | | | 5.43 | |
| DESVIACIÓN ESTÁNDAR | | | 0.09 | |

Tabla No. 4
DENSIDAD RELATIVA MUESTRA A

| TIEMPO DE MEDICIÓN | MEDICIÓN | RESULTADO | PROMEDIO | DESVIACIÓN ESTÁNDAR |
|----------------------------|-----------------|------------------|-----------------|----------------------------|
| 0 días | 1 | 0.9718 | 0.9717 | 0.0002 |
| | 2 | 0.9715 | | |
| | 3 | 0.9719 | | |
| 90 días | 1 | 0.9691 | 0.9689 | 0.0001 |
| | 2 | 0.9688 | | |
| | 3 | 0.9690 | | |
| 180 días | 1 | 0.9647 | 0.9645 | 0.0001 |
| | 2 | 0.9644 | | |
| | 3 | 0.9645 | | |
| PROMEDIO | | | 0.9684 | |
| DESVIACIÓN ESTÁNDAR | | | 0.0036 | |

Tabla No. 5
DENSIDAD RELATIVA MUESTRA B

| TIEMPO DE MEDICIÓN | MEDICIÓN | RESULTADO | PROMEDIO | DESVIACIÓN ESTÁNDAR |
|----------------------------|-----------------|------------------|-----------------|----------------------------|
| 0 días | 1 | 0.9729 | 0.9728 | 5.7735E ⁻⁵ |
| | 2 | 0.9729 | | |
| | 3 | 0.9728 | | |
| 90 días | 1 | 0.9683 | 0.9682 | 0.0001 |
| | 2 | 0.9681 | | |
| | 3 | 0.9684 | | |
| 180 días | 1 | 0.9695 | 0.9692 | 0.0002 |
| | 2 | 0.9690 | | |
| | 3 | 0.9691 | | |
| PROMEDIO | | | 0.9701 | |
| DESVIACIÓN ESTÁNDAR | | | 0.0024 | |

Tabla No. 6
DENSIDAD RELATIVA MUESTRA C

| TIEMPO DE MEDICIÓN | MEDICIÓN | RESULTADO | PROMEDIO | DESVIACIÓN ESTÁNDAR |
|----------------------------|-----------------|------------------|-----------------|----------------------------|
| 0 días | 1 | 0.9640 | 0.9638 | 0.0002 |
| | 2 | 0.9636 | | |
| | 3 | 0.9638 | | |
| 90 días | 1 | 0.9678 | 0.9676 | 0.0002 |
| | 2 | 0.9673 | | |
| | 3 | 0.9677 | | |
| 180 días | 1 | 0.9674 | 0.9675 | 0.0001 |
| | 2 | 0.9675 | | |
| | 3 | 0.9677 | | |
| PROMEDIO | | | 0.9663 | |
| DESVIACIÓN ESTÁNDAR | | | 0.0021 | |

Tabla No. 7
GRADO ALCOHÓLICO MUESTRA A

| TIEMPO DE MEDICIÓN | MEDICIÓN | RESULTADO | PROMEDIO | DESVIACIÓN ESTÁNDAR |
|----------------------------|----------|-----------|--------------|---------------------|
| 0 días | 1 | 25 | 24.66 | 0.57 |
| | 2 | 25 | | |
| | 3 | 24 | | |
| 90 días | 1 | 24 | 23.33 | 0.57 |
| | 2 | 23 | | |
| | 3 | 23 | | |
| 180 días | 1 | 22 | 22.66 | 0.57 |
| | 2 | 23 | | |
| | 3 | 23 | | |
| PROMEDIO | | | 23.55 | |
| DESVIACIÓN ESTÁNDAR | | | 1.01 | |

Tabla No. 8
GRADO ALCOHÓLICO MUESTRA B

| TIEMPO DE MEDICIÓN | MEDICIÓN | RESULTADO | PROMEDIO | DESVIACIÓN ESTÁNDAR |
|----------------------------|----------|-----------|--------------|---------------------|
| 0 días | 1 | 29 | 27.66 | 0.57 |
| | 2 | 28 | | |
| | 3 | 28 | | |
| 90 días | 1 | 27 | 27.66 | 0.57 |
| | 2 | 28 | | |
| | 3 | 28 | | |
| 180 días | 1 | 25 | 25.33 | 0.57 |
| | 2 | 26 | | |
| | 3 | 25 | | |
| PROMEDIO | | | 26.88 | |
| DESVIACIÓN ESTÁNDAR | | | 1.34 | |

Tabla No. 9
GRADO ALCOHÓLICO MUESTRA C

| TIEMPO DE MEDICIÓN | MEDICIÓN | RESULTADO | PROMEDIO | DESVIACIÓN ESTÁNDAR |
|----------------------------|----------|-----------|--------------|---------------------|
| 0 días | 1 | 24 | 24.33 | 0.57 |
| | 2 | 24 | | |
| | 3 | 25 | | |
| 90 días | 1 | 25 | 24.33 | 1.15 |
| | 2 | 24 | | |
| | 3 | 25 | | |
| 180 días | 1 | 27 | 26.66 | 0.57 |
| | 2 | 26 | | |
| | 3 | 27 | | |
| PROMEDIO | | | 25.11 | |
| DESVIACIÓN ESTÁNDAR | | | 1.35 | |

Tabla No. 10
SÓLIDOS TOTALES MUESTRA A

| TIEMPO DE MEDICIÓN | MEDICIÓN | RESULTADO | PROMEDIO | DESVIACIÓN ESTÁNDAR |
|----------------------------|----------|-----------|---------------|---------------------|
| 0 días | 1 | 0.0173 | 0.0175 | 0.0001 |
| | 2 | 0.0176 | | |
| | 3 | 0.0176 | | |
| 90 días | 1 | 0.0177 | 0.0177 | 0.0001 |
| | 2 | 0.0179 | | |
| | 3 | 0.0176 | | |
| 180 días | 1 | 0.0216 | 0.0216 | 0.0003 |
| | 2 | 0.0220 | | |
| | 3 | 0.0213 | | |
| PROMEDIO | | | 0.0189 | |
| DESVIACIÓN ESTÁNDAR | | | 0.0020 | |

Tabla No. 11
SÓLIDOS TOTALES MUESTRA B

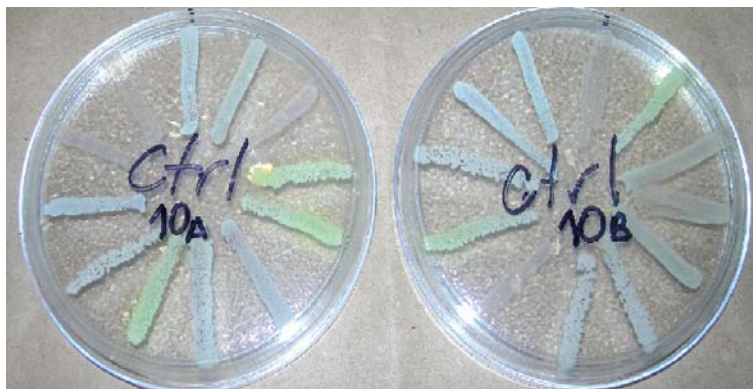
| TIEMPO DE MEDICIÓN | MEDICIÓN | RESULTADO | PROMEDIO | DESVIACIÓN ESTÁNDAR |
|----------------------------|-----------------|------------------|-----------------|----------------------------|
| 0 días | 1 | 0.0137 | 0.0138 | 0.0001 |
| | 2 | 0.0140 | | |
| | 3 | 0.0139 | | |
| 90 días | 1 | 0.0147 | 0.0147 | 0.0001 |
| | 2 | 0.0146 | | |
| | 3 | 0.0149 | | |
| 180 días | 1 | 0.0179 | 0.0180 | 0.0001 |
| | 2 | 0.0181 | | |
| | 3 | 0.0180 | | |
| PROMEDIO | | | 0.0155 | |
| DESVIACIÓN ESTÁNDAR | | | 0.0021 | |

Tabla No. 12
SÓLIDOS TOTALES MUESTRA C

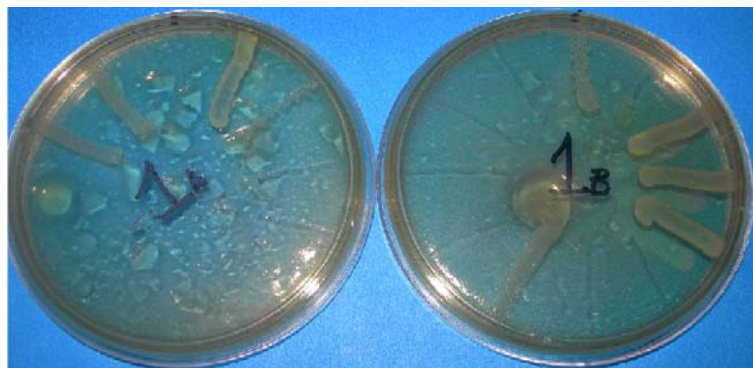
| TIEMPO DE MEDICIÓN | MEDICIÓN | RESULTADO | PROMEDIO | DESVIACIÓN ESTÁNDAR |
|----------------------------|-----------------|------------------|-----------------|----------------------------|
| 0 días | 1 | 0.0168 | 0.0168 | 0.0001 |
| | 2 | 0.0167 | | |
| | 3 | 0.0169 | | |
| 90 días | 1 | 0.0190 | 0.0191 | 0.0001 |
| | 2 | 0.0192 | | |
| | 3 | 0.0193 | | |
| 180 días | 1 | 0.0203 | 0.0201 | 0.0002 |
| | 2 | 0.0199 | | |
| | 3 | 0.0202 | | |
| PROMEDIO | | | 0.0187 | |
| DESVIACIÓN ESTÁNDAR | | | 0.0017 | |

G. RESULTADOS PRUEBA DE MITSCHER *et al.*

- Control: Etanol 50%



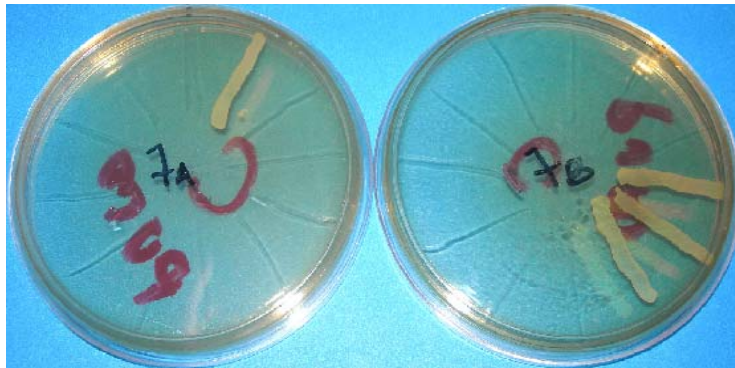
- Lote A



- Lote B

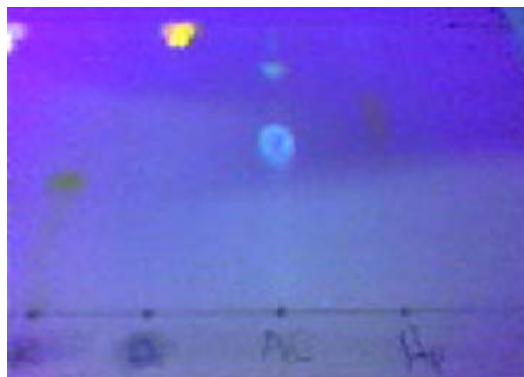


- Lote C



H. CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA

- Cumarinas



- Flavonoides

