

**UNIVERSIDAD INTERNACIONAL DE LAS  
AMÉRICAS**

**LICENCIATURA EN FARMACIA**

**EFICACIA DEL EXTRACTO DE EUCALIPTO COMO  
AGENTE ANTIMICROBIANO CONTRA STREPTOCOCCUS  
PYOGENES MEDIANTE LA FORMULACIÓN DE UNA  
CREMA DE USO TÓPICO**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PARA OPTAR POR EL GRADO DE LICENCIATURA  
EN FARMACIA**

**Gisela Montero Jiménez**

**Tutora:**

**Dra. Melissa Martínez Domínguez**

**Lector:**

**Dr. Gloria Ledezma Gutiérrez**

**San José, Costa Rica**

## Agradecimientos

Ha sido un largo proceso de aprendizaje, no solo en el campo científico sino también personal por lo que me gustaría agradecer a todas las personas que me han ayudado y apoyado durante este proceso

Le agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por darme la fortaleza en momentos de debilidad y por regalarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo de momentos felices.

Le doy gracias a mi familia a mis padres Marlene Jiménez y José Montero por los valores que me inculcaron de seguir adelante y nunca darme por vencida, por el apoyo brindado a lo largo de mi vida; por darme la oportunidad de estudiar esta carrera. Sobre todo, por ser un ejemplo a seguir en mi vida.

A mi hermano André Montero por ser un ejemplo de desarrollo laboral y personal, por ser un gran apoyo a lo largo de mi carrera y por motivarme a nunca darme por vencida.

A mi tutora, la Dra. Melissa Martínez Domínguez, le doy las gracias de todo corazón, por toda su paciencia, dedicación, motivación y aliento en el desarrollo de este trabajo; realmente ha sido un privilegio contar con su ayuda y guía.

A mi novio, por todo su apoyo, siempre me motivaste a seguir adelante con esperanza.

Agradezco toda la comprensión brindada, cariño y amor. Muchas gracias amor.

A las personas que puedo llamar amigos y futuros colegas que me dejó la universidad, por todos los momentos que pasamos juntos, por todo el cariño que me entregaron y confianza depositada en mí. Les agradezco y les quiero Fabiola Álvarez, María José Ramírez, José Pablo Wong y Jorge O'connor.

A Jorge Aguilar López por todo el apoyo, paciencia y colaboración brindados en este proceso.

Y a todas las personas que de alguna forma formaron parte de esta etapa académica

A todos; muchas gracias.

## **Dedicatoria**

Quiero dedicarle este proyecto a Dios, su ayuda durante la realización del mismo y por sentir todo su apoyo a lo largo de mi vida y bendecirme, aunque no lo merezco.

A mi madre Marlene Jiménez por todo su esfuerzo para que mis sueños se hagan realidad, Por darme todo lo que no poseo para que siga adelante, sin duda alguna es mi inspiración. Te amo y gracias por estar a mi lado y apoyarme.

A mi padre José Montero que, aunque hoy no está conmigo físicamente, pero espiritualmente no me abandona nunca. Gracias por todos los consejos y enseñanzas; y por todas aquellas regañadas de las cuales hoy veo sus frutos. Gracias papá por todo lo que me diste. Siempre te amare.

A mi hermano André Montero, te quiero mucho,

**Pensamientos**

*“Nunca consideres el estudio como un deber, sino como una oportunidad para penetrar en el maravillo mundo del saber”*

***Albert Einstein***

*“Esfuérzate por no ser un éxito, sino más bien para ser de valor”*

***Albert Einstein***

*“Haz solo lo que amas y serás feliz, y el que hace lo que ama, está benditamente condenado al éxito, que llegara cuando deba llegar, porque lo que debe ser será, y llegara naturalmente”*

***Facundo Cabral***

## Contenido

Agradecimientos.....	V
Dedicatoria .....	VI
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN .....	1
Planteamiento del problema .....	1
Hipótesis.....	4
Objetivo General .....	4
Objetivo específico.....	4
Justificación.....	5
Antecedentes .....	8
Antecedentes históricos.....	8
Internacionales.....	9
Nacionales .....	12
Proyecciones.....	13
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO .....	14
Plantas medicinales .....	14
Historia de las plantas medicinales .....	14
Plantas Medicinales y fitofármacos.....	16
Beneficios y desventajas del uso de plantas medicinales.....	18
Desventajas.....	18
Beneficios.....	18
Formación de principios activos .....	19
Metabolitos primarios y secundarios en las plantas medicinales.....	20
Aceites esenciales.....	21
Características físicas de los aceites esenciales.....	22
Características químicas de los aceites esenciales. ....	22

Componentes de los aceites esenciales .....	23
Hidrocarburos monoterpenicos. ....	23
Alcoholes.....	23
Aldehídos. ....	23
Fenoles. ....	23
Cetonas.....	24
Éteres.....	24
Ésteres. ....	24
Eucalipto.....	24
Nombre científico.....	25
Nombre común.....	25
Clasificación científica.....	25
Descripción botánica.....	26
Utilidad.....	27
Descripción del extracto.....	28
Características físicas. ....	28
Características químicas.....	28
Métodos de extracción.....	30
Destilación simple.....	30
Destilación continua usando método Soxhlet. ....	31
Maceración.....	32
Método para identificación de sus componentes.....	33
Reacciones de coloración o precipitación. ....	33
Espectro infrarrojo.....	35
Espectro ultravioleta.....	36

Espectroscopia de masas .....	36
<i>Streptococcus pyogenes</i> .....	38
Historia .....	38
Fisiología y estructura .....	40
Patogenia e inmunidad .....	41
Hidratos de carbono .....	41
Proteínas específicas de tipo.....	42
Otros componentes de la superficie.....	42
Cápsula .....	42
Características del cultivo e identificación.....	42
Epidemiología .....	43
Manifestaciones clínicas.....	44
Faringitis estreptocócica.....	44
Fiebre reumática .....	46
Glomerulonefritis post estreptocócica.....	46
Infecciones en la piel.....	46
Impétigo .....	46
Tratamiento .....	47
Sistema tegumentario .....	49
Estructura de la piel.....	49
Epidermis .....	50
Dermis .....	50
Flora bacteriana de la piel .....	51
Excreción y absorción de sustancias .....	51
Lesiones de la piel .....	51

Mácula.....	51
Pápula.....	51
Nódulo.....	52
Roncha.....	52
Presentación farmacéutica.....	52
Forma farmacéutica.....	52
Formulación farmacéutica.....	53
Componentes de una formulación farmacéutica.....	54
Medicamentos de uso tópico.....	55
Crema.....	55
CAPÍTULO III.MARCO METODOLÓGICO.....	57
Enfoque.....	57
Diseño.....	57
Variables.....	58
Instrumentos y técnicas de recolección.....	60
Cristalería requerida.....	60
Reactivos necesarios.....	61
Método.....	62
Método de soxhlet.....	62
Cromatografía de capa fina.....	66
Pruebas de identificación de componentes del aceite esencial de eucalipto.....	72
Análisis cualitativo por espectroscopia IR del aceite de eucalipto.....	73
Identificación de componentes por coloración.....	74
Identificación de saponinas.....	74
Identificación de flavonoides (prueba de Salkowski).....	75

Identificación de terpenos y esteroides (Prueba de Lieberam-Burchard) .....	75
Identificación de fenoles (Prueba de Cloruro de hierro (III) (FeCl <sub>3</sub> ) /salina) .....	75
Identificación de la concentración y componentes del aceite de eucalipto .....	75
Prueba microbiana.....	76
Elaboración de la forma farmacéutica.....	77
Elaboración de la crema .....	77
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y ANÁLISIS .....	79
Variable 1. Extracción de aceite esencial a partir de las hojas de eucalipto con el método de soxhelt. ....	79
Pruebas de identificación.....	87
Variable 2. Evaluación experimental del método de extracción del aceite esencial del eucalipto para obtener un aceite más puro. ....	90
Análisis por espectroscopia IR de los aceites esenciales de eucalipto obtenidos a partir de disolvente: agua y éter etílico.....	90
Análisis del cromatograma y espectro de masas obtenido del aceite esencial de eucalipto mediante la técnica de cromatografía de gases acoplado a un detector de masas.....	95
Variable 3. Elaboración de una crema a base de la extracción del aceite esencial del eucalipto con propiedades anti bacteriales .....	98
Variable 4. Comparación de la eficacia de la crema (fitofármaco), el aceite esencial obtenido de la extracción del eucalipto y la crema sin aceite esencial en su formulación, de manera experimental sobre cepas controladas de <i>streptococcus pyogenes</i> . ....	102
Variable 5. Determinar la eficacia de la crema de eucalipto mediante una comparación in-vitro con el tratamiento tópico más utilizado en farmacia comunitaria.....	105
CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	107
Recomendaciones.....	109
REFERENCIAS .....	110

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Árbol de <i>Eucalyptus globulus</i> .....	25
Ilustración 2. Hojas con el fruto de la especie <i>E. globulus</i> . .....	26
Ilustración 3. Molécula del 1,8-cineol o eucaliptol .....	29
Ilustración 4. Destilación simple .....	30
Ilustración 5. Método de Soxhlet .....	31
Ilustración 6. Método de extracción (maceración) .....	32
Ilustración 7. Ejemplo de prueba de cambio de color. Reacción positiva a la presencia de almidón .....	34
Ilustración 8. Espectro obtenido para aldehídos .....	36
Ilustración 9. Espectro de masas .....	37
Ilustración 10. <i>Streptococcus pyogenes</i> .....	39
Ilustración 11. Estructura del <i>S. pyogenes</i> .....	41
Ilustración 12. Cultivo de <i>S. pyogenes</i> en agar sangre .....	43
Ilustración 13. Faringitis estreptocócica .....	44
Ilustración 14. Escarlatina en lengua .....	45
Ilustración 15. Impétigo .....	47
Ilustración 16. Estructura de la piel .....	50
Ilustración 17. Formas farmacéuticas sólidas de uso tópico .....	53
Ilustración 18. Equipo de destilación por método de Soxhlet .....	62
Ilustración 19. Separación de la fase acuosa de la fase orgánica. ....	63
Ilustración 20. Rota vapor (muestra de extracción en agua) .....	64
Ilustración 21. Equipo de extracción de disolvente Rota vapor .....	65
Ilustración 22. Materiales utilizados para realizar la cromatografía de capa fina .....	66
Ilustración 23. Placa de sílica seca. ....	67
Ilustración 24. Placa preparativa de sílica gel. ....	68
Ilustración 25. Placa preparativa con la muestra del extracto de éter etílico .....	68
Ilustración 26. Placa de sílice preparativa del extracto de éter etílico raspada. ....	69
Ilustración 27. Raspado disuelto en 10 ml de la fase móvil .....	70
Ilustración 28. Extracto colocado en baño maría .....	71
Ilustración 29. Reconstitución del extracto obtenido a partir de éter etílico .....	71

Ilustración 30.Eucaliptol (1.8-cineol).....	72
Ilustración 31.Muestras del aceite de eucalipto obtenido, utilizando disolvente agua y utilizando éter etílico.....	74
Ilustración 32.Espectrofotómetro infrarrojo IR usado para la identificación de los aceites esenciales de eucalipto obtenidos con disolvente acuoso y éter etílico. ....	74
Ilustración 33.Muestra del aceite esencial obtenida con el disolvente éter etílico que se utilizó para la cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas.....	76
Ilustración 34.Separación de las fases para el extracto acuoso. ....	81
Ilustración 35. Procedimiento de la cromatografía de capa fina. ....	84
Ilustración 36.Proceso donde la fase móvil iba subiendo. ....	85
Ilustración 37.Resultado obtenido para los extractos acuoso, etanolito y éter etílico con la cromatografía de capa fina .....	85
Ilustración 38.Resultado obtenido después del baño maría. ....	87
Ilustración 39.Resultado obtenido de las pruebas de identificación .....	89
Ilustración 40.Apariencia física de la crema a base del aceite esencial de eucalipto realizado en el laboratorio de la Universidad Internacional de las Américas.....	100
Ilustración 41.Producto terminado debidamente etiquetado .....	101
Ilustración 42Empaque secundario de la crema a base de eucalipto.....	101

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación científica.....	25
Tabla 2. Componentes del extracto de Eucalipto globulus. ....	29
Tabla 3. Características del aceite de eucalipto.....	30
Tabla 4. Clasificación científica.....	39
Tabla 5. Tratamientos eficaces para faringitis estreptocócica.....	48
Tabla 6. Variables de la investigación.....	58
Tabla 7. Gramos de material vegetal y gramos del extracto obtenido después de evaporar el solvente.....	82
Tabla 8. Porcentaje de rendimiento obtenido experimentalmente con los diferentes disolventes (extracto aun con clorofila) .....	83
Tabla 9. Propiedades físicas de los aceites esenciales obtenidos en el laboratorio.....	87
Tabla 10. Pruebas de identificación .....	88
Tabla 11. Resultados obtenidos de las pruebas de identificación para los extractos (acuoso y éter etílico).....	89
Tabla 12. Asignación de las bandas obtenidas en los infrarrojos para las muestras de los dos extractos .....	94
Tabla 13. Porcentajes de los reactivos necesarios para la elaboración de la crema .....	99
Tabla 14. Características de la crema elaborada con extracto de eucalipto .....	99

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.Extractos obtenidos con los diferentes disolventes utilizados. ....	80
Figura 2. ml teóricos obtenidos de la extracción del aceite esencial del eucalipto. ....	83
Figura 3. Cromatografía de capa fina extracto (acuoso, etílico y éter) .....	86
Figura 4. Resultado del infrarrojo para la muestra del extracto de éter etílico usando el espectrofotómetro modelo Perkin Elmer Spectrum FT-I, realizado en las instalaciones de Los Laboratorio Químicos de la Universidad Iberoamericana UNIBE. ....	91
Figura 5.Resultado del infrarrojo para la muestra del extracto acuoso usando el espectrofotómetro modelo Perkin Elmer Spectrum FT-I, realizado en las instalaciones de Los Laboratorio Químicos de la Universidad Iberoamericana UNIBE .....	92
Figura 6.Espectro infrarrojo del 1.8- cineol disponible en Spectral Database for Organic Compounds (SDBS).....	93
Figura 7.Cromatograma obtenido mediante análisis de cromatografía de gases acoplado a masas realizado en CIPRONA, UCR.....	96
Figura 8.Cromatograma obtenido por los autores mediante el análisis de cromatografía de gases acoplado a masas realizado en Manizales, Colombia 2009 .....	97
Figura 9.Espectro masas del eucaliptol disponible en Spectral Database for Organic Compound .....	97
Figura 10.Inhibición obtenida del aceite esencial, la crema con extracto y la crema sin extracto. Realizada en el mes de febrero en el laboratorio Microlabs .....	103
Figura 11.Inhibición obtenida del aceite esencial del eucalipto. Realizada en el mes de febrero en el laboratorio Microlabs .....	104
Figura 12.Inhibición obtenida de la crema elaborada a base de eucalipto y la crema sin extracto. Realizada en el mes de marzo en el laboratorio Microlabs .....	105

## ÍNDICE DE ECUACIONES.

Ecuación 1, Ecuación para calcular el rendimiento experimental obtenido del método soxhelt. ..65

## CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

### Planteamiento del problema

Para poder disfrutar de la vida con plenitud, la salud es un factor esencial. Nuestros antepasados utilizaron plantas para sanarse; culturas como: la egipcia, la europea, las del continente americano como por ejemplo la azteca, maya y la inca desarrollaron curaciones utilizando plantas medicinales. (Pacheco, 2013, p.13)

Otro autor establece que “La medicina natural o ciencia de la salud nació con el hombre y fue practicada por los sacerdotes egipcios y caldeos. También la cultivaron los filósofos de la antigüedad” (Lezaeta,1997, p.18). La fundación Salud y Naturaleza (2007, p.17) expresa que la medicina convencional ha ido evolucionando con el tiempo, promoviendo la investigación específica de una familia específica de planta; es decir no solo buscar el principio activo causante de alguna reacción farmacológica, sino la sustancia que proporciona la respuesta farmacológica esperada.

El autor anteriormente citado argumenta que el mercado de productos naturales ha ido evolucionando siguiendo algunos pasos; En primer lugar, desarrollando o investigando las materias primas vegetales aplicando todos los conocimientos clásicos y actual, midiendo identidad, pureza y riqueza; En segundo lugar, analizando los mecanismos de acción ya que no solo puede proporcionar una respuesta terapéutica en una planta; y en tercer lugar, validar farmacológica y terapéuticamente el producto natural para otorgarle una identidad terapéutica y de esta forma tratar una patología en específico (2007, p.17).

Manhood comenta que a nivel mundial los antibióticos se han dividido: en la terapia normal o también llamadas drogas principales que son producidas sintéticamente en un laboratorio farmacéutico y, por otro lado, las terapias botánicas o naturales; en las cuales las industrias farmacéuticas han utilizado plantas capaces de producir sustancias químicas potentes para combatir eficazmente el crecimiento microbiano y a su vez purificarlas al máximo para poder obtener un tratamiento no tóxico en los pacientes. (2013, p.823)

La Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) tiene actualmente aprobados un grupo muy pequeño de fármacos, entre ellos encontramos antibióticos que son producidos a partir de material vegetal. Así mismo, el autor Manhood establece que los

medicamentos naturales están documentados; entre esas documentaciones podemos encontrar algunos beneficios que presentan las sustancias antibióticas naturales. No obstante, los estudios in vitro solo se realizan para evaluar los fotoquímicos y su actividad de estos extractos con hierbas que tienen una actividad antibiótica conocida. El autor concluye que los productos naturales son fuente para explotar y de esta manera encontrar nuevas moléculas importantes de estudio. El uso de técnicas relacionadas como: el aislamiento, la identificación, la extracción y la comercialización provocaría que los productos sean más económicos, eficaces, rápidos en fabricación y confiables. (Manhood, 2013, pp. 825-830)

Los antibióticos son sustancias químicas producidas por un ser vivo o fabricada por síntesis, que puede ser capaz de matar o frenar el crecimiento u desarrollo de algunos microorganismos patógenos, por una acción bacteriostática, que es la que causa la muerte de ellos o bactericida. Dicho de otra forma, son las sustancias que matan a las bacterias. Los antibióticos ayudarán a combatir infecciones bacterianas comunes, entre ellas se encuentran patologías como bronquitis, sinusitis, infecciones de oídos, neumonías, entre muchas otras. (Morán, 2014, s.p)

Las infecciones respiratorias son muy frecuentes en la población; estas representan una causa de morbilidad y mortalidad muy alta en todas las edades. Se pueden presentar infecciones según su localización en la parte baja o alta del tracto respiratorio e infecciones según su etiología ya sea bacteriana, viral o las específicas o inespecíficas. Cuando se habla de infecciones bacterianas se mencionan patologías como, por ejemplo: faringitis bacteriana, fiebre reumática, laringotraqueobronquitis aguda, epiglotis, entre otras. Los microorganismos causantes de estas patologías encontramos *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes*. (Macedo y Mateos, 2008, p.137)

*Streptococcus pyogenes* son microorganismos prevalentes en niños; causante de frecuentes trastornos en las vías respiratorias. Los antibióticos más usados para el tratamiento son los macrólidos como la eritromicina. El uso de la eritromicina ha ido aumentando al pasar los años ya que ha aumentado la frecuencia con la que los niños presentan alergia a otros medicamentos como la penicilina, medicamento utilizado como antibiótico frente a *S. pyogenes*. (Hesheng, 2010, p.84).

No obstante, cada vez con más frecuencia se han reportado casos donde el microorganismo no es sensible a dichos antibióticos por lo que crea un mecanismo de defensa o

resistencia eliminando la acción del antibiótico utilizado, perjudicando la salud pública ya que no se podría sanar a los individuos que presenten una patología asociada a uno o más microorganismos específicos. (Hesheng,2010, p.84).

Se puede clasificar el microorganismo, según el autor Vomero (2013, p.729), indica en su documento “*Streptococcus pyogenes* es una cocácea grampositiva que produce un amplio espectro de patologías desde leves como faringitis hasta presentaciones clínicas muy graves que pueden provocar la muerte.” (Vomero, 2013, p729). Este es la causa número uno que origina infecciones cutáneas y sistémicas, entre ellas la faringitis aguda. No obstante, también se reportan casos de fiebre reumática y glomerulonefritis aguda postestreptococica (Aracil y Álos, s.f, p.1)

Entre las principales patologías que se asocian a *s. pyogenes* son tres síndromes, por ejemplo: el síndrome de shock tóxico, fascitis necrosante, y también enfermedades invasoras como: bacteriemia, neumonía, osteomielitis, celulitis necrosante y artritis séptica. Es de suma importancia el descubrimiento, diagnóstico y tratamiento a tiempo ya que este microorganismo tiene alta morbilidad y mortalidad. (Vomero, 2013, p.729)

Elaissi menciona en su estudio que, en la medicina tradicional tunecina, inhalaban especies de eucalipto como tratamiento para trastornos a nivel respiratorio como faringitis, bronquitis y sinusitis. Algunos investigadores han demostrado la eficacia del extracto del aceite de eucalipto contra *Haemophilus influenzae* y *Stenotrophomonas maltophilia*. (Elaissi, 2012, p.2)

El eucalipto es una de las especies de plantas más importantes y su aceite esencial se utiliza para muchos fines a nivel medicinal. Lo que más se utiliza de la planta son las hojas, ya que en estas encontramos el efecto medicinal antiviral o antibacteriana. Muchos estudios han encontrado que el aceite esencial del eucalipto posee muchas acciones farmacológicas no conocidas y estas deben ser estudiadas por sus muchos beneficios que aún no han sido explotados. Por ejemplo: un estudio se encontró la acción medicinal del eucalipto sobre enterovirus.

Donde lo más importante a nivel molecular que presentaba la planta eran componentes como: taninos, saponinas y cardenólidos. Sin embargo, lo que más llama la atención son las antraquinonas, donde parte de su mecanismo de acción es activar los linfocitos en las personas ya infectadas y evitan que el virus empiece a desarrollar resistencias y a su vez una replicación viral.

(Alake, Oluseun y Doyin, 2015, p. 1773) No obstante, también se encontró que el extracto de eucalipto tiene acción farmacológica sobre hongos fitopatógenos. (Elaiissi, 2012, p.2-4)

Ante esto, surge la necesidad de investigar acerca del tema, utilizando las plantas naturales para obtener una alternativa farmacéutica; surgiendo la siguiente interrogante.

¿Cuál es la eficacia del aceite esencial obtenido de la planta de eucalipto sobre el microorganismo *s. pyogenes*?

### **Hipótesis**

El aceite extraído del eucalipto tiene eficacia como antibiótico contra *streptococcus pyogenes*.

### **Objetivo General**

Evaluar de forma in vitro la acción antimicrobiana del aceite esencial del eucalipto sobre el *streptococcus pyogenes* y la elaboración de una crema de uso tópico que posee actividad sobre este microorganismo.

### **Objetivo específico**

Extraer del aceite esencial de eucalipto su principio activo responsable de producir el efecto antimicrobiano contra *streptococcus pyogenes*.

Evaluar experimentalmente el método de extracción del aceite esencial del eucalipto para obtener un aceite más puro, utilizando varios disolventes en el proceso.

Elaborar una crema a base de la extracción del aceite esencial del eucalipto con propiedades anti bacteriales.

Comparar la eficacia de la crema (fitofármaco), el aceite esencial obtenido de la extracción del eucalipto y la crema sin aceite esencial en su formulación, de manera experimental sobre cepas controladas de *streptococcus pyogenes*.

Determinar la eficacia de la crema de eucalipto mediante una comparación in-vitro con el tratamiento tópico más utilizado en farmacia comunitaria.

### **Justificación**

Costa Rica, por ser un país con una gran variación en su clima y por sus altos niveles, contribuye a que se presenten en la población un gran número de afecciones a nivel del tracto respiratorio y, además, por la diversidad climática se favorece el crecimiento de muchas cepas de microorganismos que provoca afecciones en la salud de la población costarricense y es una de las causas de consultas médicas en la actualidad.

Estas afecciones provocadas por un agente causal deben ser tratadas lo más rápidamente por un antibiótico eficaz para estas cepas. Actualmente la población costarricense opta por utilizar medicamentos basados en productos medicinales, ya que consideran estas terapias menos invasivas que las moléculas sintéticas elaboradas en un laboratorio farmacéutico.

En una encuesta realizado en Colombia, el 9% de los médicos utilizaban fitoterapia para medicar a sus pacientes. Entre las principales patologías tratadas se encontraban trastornos en el tracto respiratorio, alergias, trastornos del sueño, cólicos abdominales, entre otros. (Moreno, 2017, pp. 44-51). Por ende, es de gran importancia realizar esta investigación, ya que, si se comprueba el efecto antimicrobiano del extracto obtenido a partir del eucalipto frente al *s. pyogenes*, se podría resolver el problema de las afecciones al desarrollar una alternativa farmacéutica natural para el tratamiento de patologías relacionadas con este microorganismo.

En la Caja Costarricense del Seguro Social (CCSS) una de las consultas externas más frecuentes son las afecciones a nivel respiratorio, donde la población más perjudicada oscila en los niños menores de 5 años y los adultos mayores de 50 años. El *s. pyogenes* es uno de los microorganismos causantes de diversas patologías entre ellas faringitis aguda, ocasionalmente causante de neumonía o bacterinemia, se puede encontrar de forma mixta con *staphylococcus aureus* (Macedo y Mateos, 2008, p.137). Se ha encontrado *s. pyogenes* en piel ocasionando trastornos como impétigo, erisipela, escarlatina hasta fascitis necrotizante. Por lo que se puede concluir que no es un microorganismo que solo abarca una zona, y por ello muestra un interés

hacia su estudio, diseño de un fármaco para, inhibir su crecimiento. (Sellarés y Moraga, s.f, pp.29-35)

Como se comentó anteriormente no solo se puede encontrar *s.pyogenes* en el tracto respiratorio sino también en la piel. Los autores Sellares y Moraga, señalan que cada vez existen más casos reportados de infecciones en piel causadas por bacterias pirógenas principalmente estafilococos y estreptococos en niños, donde su forma más común es el impétigo. No obstante que son patologías consideradas como leves, pueden darse, en ocasiones, complicaciones como la fiebre reumática.

Las infecciones mencionadas si presentan cura, por ejemplo, para microorganismos como *s.pyogenes* se tratan con el uso de penicilinas y para las afecciones en la piel se necesitan aproximadamente de 10 días de tratamiento, que es algo más de lo habitual y de 7 a 8 días más para eliminar definitivamente el microorganismo. Sin embargo, para el año 2001 un estudio realizado por Sellarés y Moraga, donde se reportó la resistencia que estaba haciendo el microorganismo a eritromocina con un 41%, un 5% a clindamicina; sin olvidar los casos reportados de alergia en niños y adultos al uso de penicilina como antibiótico. (2018, pp.29-35). Por lo tanto, crear una terapia medicamentosa beneficia todos los pacientes ya sean niños o adultos mayores que presenten afectaciones relacionadas a este microorganismo.

*Streptococcus pyogenes* es el principal agente etiológico bacteriano de la faringoamigdalitis aguda; también puede causar infecciones de piel y tejidos blandos y, menos frecuentemente, infecciones invasivas graves. Hasta la fecha no se ha descrito ninguna cepa de *S. pyogenes* con resistencia o sensibilidad disminuida a penicilina. Los macrólidos y las lincosamidas constituyen una alternativa en pacientes alérgicos, con tasas de resistencia variables (calle, 2015, p.2)

En la actualidad existen microorganismos que son resistentes a diferentes antibióticos, estos se propagan por medio del aire, agua, entre otros., por lo que esto presenta una amenaza para los seres humanos. Los microorganismos crean resistencia al antibiótico debido a un inadecuado uso de estos mismos y, por consiguiente, trae una pérdida de acción del antibiótico de elección; ya que se empiezan a crear defensas a estos y, por ende, el antibiótico no ejerce la acción terapéutica deseada. (Saguma, 2014, pp.1-2). Al pasar los años, el interés de estudiar

compuestos orgánicos ha ido en aumento, ya que se pueden crear y analizar otras moléculas a partir de material vegetal que ayuden a eliminar el crecimiento de un microorganismo específico o también de muchos microorganismos que intervienen en una patología específica.

El autor Cea de Amaya establece que, a partir del siglo XX, se empezó a estudiar el consumo de plantas basado en un conocimiento de estas más científicamente, por medio de estos estudios, los investigadores comprobaron la eficacia y seguridad de algunas plantas medicinales. (2013, p.1). Un ejemplo de ello es demostrar de forma in vitro, la eficacia del aceite obtenido a partir del eucalipto sobre un microorganismo específico, con el fin de crear un nuevo tratamiento basado en medicina natural y disminuyendo efectos secundarios que se pueden obtener a partir del uso de moléculas sintéticas.

“La ciencia que estudia el uso de plantas medicinales y las incorpora en formas farmacéuticas (fitofármacos), cuya calidad, seguridad y eficacia están garantizadas, teniendo en cuenta las características de las drogas vegetales y extractos” (Cea de Amaya, 2013, p.1)

En el desempeño del rol como profesional farmacéutico se es responsable de promover una educación adecuada del uso de los fitofármacos, ya que estos pueden ser más potentes que los sintéticos y causar efectos secundarios no deseados. También se pueden presentar interacciones medicamentosas e intoxicaciones. Sin embargo, los daños causados por tratamientos utilizando antibióticos sintéticos son más nocivos, por lo que al usar fitofármacos se disminuyen dichos daños.

La tendencia por la búsqueda de medicamentos por parte de los investigadores y empresas farmacéuticas es de gran importancia ya que, permite investigar, desarrollar e innovar el mercado mundial de los medicamentos. Sin embargo, crear conciencia sobre el uso inadecuado e indiscriminado de plantas para evitar daños en el ecosistema como reforestación indiscriminada o una extinción de una especie vegetal.

Las hojas de eucalipto tienen eficacia contra *C.albicans*, *E.coli*, *S. aureus* y *s. pyogenes*. Además, tiene actividad diurética en ratas; así mismo, tiene efecto relajante muscular, actividad anticonvulsiva, hiperlipemia e hipertensiva en animales. Su acción se le atribuye a cineol y citriodorol que son sus principales principios activos. (Yaquian, 2011, p.1)

Aunque se han realizado diversos estudios acerca de la actividad antimicrobiana del aceite esencial obtenido del eucalipto; no existen estudios en nuestro país que demuestren esta actividad frente al *s. pyogenes*; por lo que al realizar esta investigación va a permitir establecer una relación entre el eucalipto como inhibidor del crecimiento microbiano del *s. pyogenes*.

Contar con diversas alternativas farmacéuticas es de gran importancia ya que de esta forma se logra brindar otra opción medicamentosa que se utiliza para el tratamiento de patologías asociadas al microorganismo en estudio. Y así, poder facilitar que la sociedad tenga acceso al medicamento para que todo aquel que lo necesite pueda adquirirlo y utilizarlo.

Adicionalmente, con este trabajo de investigación se favorece la información y evidencia para próximas investigaciones, con el fin de obtener un mejor método de extracción, elaboración de nuevos medicamentos como fitofármacos que ayuden a mejorar la calidad de vida de la población y, así mismo, aumentar la esperanza y calidad de vida.

### **Antecedentes**

Se investigó acerca de antecedentes relacionados con el tema de investigación con bases de datos a nivel nacional, por ejemplo, la biblioteca de la Universidades Internacional de las Américas y BINASS en las cuales se hallan tres antecedentes solamente. Por otro lado, a nivel internacional se encontraron artículos científicos y estudios clínicos, en revistas científicas como: Scielo, PubMed Y Medline; se localizaron alrededor de 9 antecedentes.

Adicionalmente, también se realizó la investigación en las diferentes universidades como lo son la UCR, UCIMED, LATINA y Unibe, como resultado no se encontraron tesis realizadas al tema en estudio.

### **Antecedentes históricos**

Desde el nacimiento de la especie humana se han utilizado plantas medicinales como alimentación, vegetales y uso medicinal, por lo que las antiguas civilizaciones usaron plantas para el tratamiento de diversas enfermedades; un ejemplo de ello es en Grecia donde Hipócrates, el padre de la medicina, utilizó 200 hierbas y por otro lado otros médicos de origen griego empelaros 800 hierbas de uso medicinal. Así mismo, existieron otras culturas como la egipcia, la

europea, la árabe, la hindú; en las cuales también se puede encontrar material documentado. En América existieron los aztecas, la maya y la inca. (Pacheco, 2003, p. 15).

El primer tratado de la botánica se encuentra plasmado en los escritos de Teofrasto con el nombre *Historias de las Plantas*. Teoflasto fue el primero en analizar el mundo vegetal describiendo la fisiología de las plantas y ubicación geográfica de las mismas. Este escrito fue fuente de inspiración para Dioscórides y Galeno. Dioscórides fue un botánico y científico griego, el autor del libro *De materia médica* donde se comentaba las propiedades medicinales de las plantas que se conocían en esa época. (Medina, 2015, pp. 6-15).

En la actualidad, la terapia utilizando medicamentos medicinales es la más barata que minimiza efectos secundarios obtenidos de la terapia convencional, por esta razón, la población de los países desarrollados como Estados Unidos y Alemania utilizan fitoterapia como la principal terapia.

### **Internacionales**

En el año 1991, el autor Cáceres del artículo “Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases 1. Screening of 68 plants against gram positive bacteria”. El autor utilizó tres cepas más comunes que ocasionan patologías asociadas a las vías respiratorias, entre ellas *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes*; de las 68 plantas a las cuales le realizó el análisis solamente el 41.2% inhibieron el crecimiento de una o más de las bacterias probadas. *Staphylococcus aureus* fue inhibido por 18 de los extractos de plantas, por otro lado. 7 extractos fueron efectivos contra *Streptococcus pyogenes*. Su importancia es que proporciona una base científica para el uso de estas plantas contra infecciones respiratorias bacterianas.

El trabajo de graduación presentado por Flores, Hernández y Valladares acerca de la “Determinación de la actividad antifúngica de aceites esenciales extraídos DE *Lippia graveolens* (ORÉGANO), *Rosmarinus officinalis* (ROMERO) y *Eucalyptus globulus* (EUCALIPTO) en *Microsporum canis* *Trichophyton rubrum* y *Epidermophyton floccosum*” en el 2004. Tuvo como principal objetivo demostrar el efecto antifúngico de las especies anteriormente mencionadas, en el mismo se obtuvo como resultados y conclusión un resultado positivo antifúngico de todos los

aceites extraídos. El que demostró más actividad antifúngica fue el orégano, no obstante, no se descartó la actividad antifúngica de la planta eucalipto.

Así mismo, el artículo elaborado por la Facultad de Farmacia de la Universidad de Ciencias Médicas de Teherán (Teherán, Irán). El nombre del documento es “Efectos antibacterianos del extracto de hojas de *Eucalyptus globulus* en bacterias patógenas aisladas de muestras de pacientes con trastornos del tracto respiratorio” de los autores Salari, Amine, Shirazi, Hafezi y Mohammadpour (2006), se prepararon disoluciones de eucalipto a diferentes concentraciones y se comprobó su eficacia frente a microorganismos que provocan patologías a nivel del tracto respiratorio (*S. aureus*, *Strep. pyogenes*, *Strep. pneumoniae* y *H. influenza*); como resultado final se logró un resultado positivo frente todos los microorganismos ya descritos anteriormente.

Adicionalmente, en otro ensayo elaborado se examinó la eficacia del extracto de eucalipto frente a todos los microorganismos que causan daños en el tracto respiratorio. Como resultado se obtuvo un resultado positivo para *s. pyogenes*; sin embargo, los que más presentaron sensibilidad al extracto fueron *H. influenzae*, *H. parainfluenzae*, and *S. maltophilia*. (elaborado por: Cermelli, Fabio A, Fabio G y Quaglio “Effect of Eucalyptus Essential Oil on Respiratory Bacteria and Viruses” (2007))

En un artículo elaborado por Rasooli, Shayegh y Astaned en el año 2009 llamado “El efecto de los aceites esenciales de *Mentha spicata* y *Eucalyptus camaldulensis* en la biopelícula dental”; el cual compara los aceites extraídos de la menta y el eucalipto sobre dos microorganismos, por ejemplo: *streptococcus pyogenes* y *streptococcus mutans*. Los aceites fueron analizados por cromatografía y espectrometría de gases. Donde a una concentración mínima del extracto de eucalipto (2 mg/ml) se obtuvo un resultado positivo y en comparación entre la menta y el eucalipto y este fue más eficaz.

En el estudio realizado por Méndez (2011) de nombre “Essential Oils from Different Plant Parts of *Eucalyptus cinerea* F. Muell. ex Benth. (Myrtaceae) as a Source of 1,8-Cineole and Their Bioactivities”, se utiliza el eucalipto con el fin de comprobar su efecto antimicrobiano. El aceite esencial obtenido de la planta se estudió en *streptococcus pyogenes*, *staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *cándida albicans*. Se obtuvo un resultado de sensibilidad positivo a concentraciones 0.39 mg/ml, 0.78 mg/ml, 1.56mg/ml y 0.78 mg/ml respectivamente.

Este estudio es de gran utilidad ya que se puede conocer primeramente que el eucalipto si tiene efecto antimicrobiano sobre *s. pyogenes* además de conocer una concentración en la cual podemos tener un resultado experimentalmente positivo.

Otro artículo científico titulado “Chemical composition of 8 eucalyptus species' essential oils and the evaluation of their antibacterial, antifungal and antiviral activities” (2012). En él se evaluaron ocho especies de Eucaliptus contra siete microbios aislados bacterianos (*Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes*). Como resultado se descubrieron veinticinco componentes del aceite que tenían que ver con el efecto antimicrobiano y se mostró la actividad más fuerte contra *S. aureus*, *H. influenzae*, *S. agalactiae*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*. Además, se logró apreciar que también tiene actividad antiviral.

El autor Saguma de la Universidad Nacional de Trujillo, Perú. Realizó una investigación acerca “Sensibilidad de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* frente a diferentes concentraciones de aceite esencial de Eucaliptus Globulus (2014). El objetivo de este estudio fue comprobar la eficacia del eucalipto, el cual fue extraído a diferentes concentraciones 25,50,75,100% a partir de destilación por arrastre de vapor, el cual resulta importante conocer para obtener resultados favorables en estudio que se desea realizar. Como resultado se obtuvo que *S. aureus* presentó mucha sensibilidad en concentraciones 75 y 100%; sin embargo, en *P. aeruginosa* también se obtuvo resultado positivo, pero a concentraciones del 100%.

En el artículo científico realizado en China llamado: “Genome analysis of *Streptococcus pyogenes* associated with pharyngitis and skin infections” (2016), el autor Ibrahim realiza un estudio acerca de todas las variaciones genéticas que tiene *s. pyogenes*, el objetivo del estudio fue encontrar la presencia de genes virulentos dentro de los microorganismos; además de elementos de resistencia y caracterización de genoma, el cual es de suma importancia para el estudio a realizar ya que se puede llegar a definir el mecanismo de acción del eucalipto como antibiótico frente el *s. pyogenes*.

## Nacionales

Acuña, en su tesis llamada “Obtención del aceite esencial de *Cymbopogon nardus*, *Menta Spicata* y *Eucaliptus globulus* e incorporación en una forma farmacéutica como spray repelente y comprobación de su efectividad en especies de orden díptero” realizada en el 2011 en la Universidad Internacional de las Américas. En el trabajo de investigación se realizó la extracción de los aceites esenciales mediante dos técnicas, una de ellas destilación por arrastre por vapor de agua y la otra extracción utilizando el soxhlet; al comparar ambos métodos se obtuvo una mejor eficacia en el método de extracción por arrastre utilizando vapor de agua. Se comprobó su eficacia tomando 50 larvas a las cuales se le roció el repelente, obteniendo un resultado positivo. Este estudio es importante ya que nos brinda información de las técnicas con mayor eficacia de extracción del eucalipto.

La autora Obando Monzerrath realizó una tesis llamada “Extracción del aceite de eucalipto para el estudio fitoquímico de sus propiedades antibacterianas y antisépticas, con el propósito de elaborar un gel y en spray bucal durante los meses de enero – abril del año 2012” realizada en la Universidad Internacional de las Américas; en dicho documento se investiga si verdaderamente el eucalipto presenta propiedades antibacterianas y antisépticas. Los extractos se obtuvieron más puros mediante hidro destilación y rotavapor. Se determinó como principal componente el 1,8-cineol, lo cual resulta importante ya que se trabaja con esta misma planta y se concluyó que el aceite esencial del eucalipto inhibe de forma total el crecimiento microbiológico del *s. aureus*.

Así mismo, en la Universidad Internacional de las Américas, se realizó una tesis por Morales (2012) “Análisis in vitro del efecto antibacteriano del aceite esencial del clavo de olor (*syzygium aromaticum*) sobre una de las principales bacterias causales de faringoamigdalitis (*Streptococcus pyogenes*) realizado durante los meses de mayo y agosto del 2012. Ella realiza la extracción del clavo de olor y hace las pruebas in vitro sobre el microorganismo en estudio, lo cual es importante para el estudio por realizar ya que se puede efectuar el mismo procedimiento microbiológico utilizado. El resultado obtenido de este trabajo de graduación fue positivo; es decir, se comprueba la eficacia del extracto del clavo de olor ante *s. pyogenes*. Es importante conocer la metodología empleada en este trabajo ya que podemos conocer cómo preparar

experimentalmente los agares que van a contener *s.pyogenes*, que es el macroorganismo con el que se va a trabajar.

### **Proyecciones**

Con los resultados obtenidos en esta investigación se pretende dar conciencia del uso de plantas medicinales como alternativa medicamentosa de tratamiento acerca de diferentes patologías, en este caso contra *s. pyogenes*; y de esta forma reducir la resistencia que puede crear los antibióticos sintetizados. Además de demostrar que el eucalipto es una planta en la cual se desconocen muchos otros efectos medicinales por ello debe ser estudiada a profundidad.

## **CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO**

En el siguiente capítulo se presentará toda la información recolectada, de forma ordenada, acerca del tema en estudio, con el fin de conocer y entender más específicamente todos los temas que se abarcarán en esta investigación. Por lo que se podrá encontrar toda la información recolectada sobre el eucalipto; así como del microorganismo y finalmente de la forma farmacéutica que se desea elaborar.

### **Plantas medicinales**

La curación de enfermedades para nuestros antepasados estaba asociada al uso de plantas en su mayoría medicinales; donde esa acción beneficiosa era provocada por las sustancias llamadas principios activos. Al pasar los años, las diferentes culturas han empezado a utilizarlas para distintos padecimientos; esto enriqueciendo la investigación botánica ya que en la actualidad se aportaron conocimientos relevantes para la fabricación de fitofármaco. (Obando, 2012, p.24)

### **Historia de las plantas medicinales**

Se puede decir que las plantas medicinales se empezaron a utilizar desde tiempos prehistóricos para la curación de enfermedades en humanos y en los animales. Así mismo, para mejorar el estado de ánimo. Esta práctica médica se va perfeccionando con el paso del tiempo; de generación en generación por lo cual al uso de medicamentos se le llamó medicinal tradicional. (Jiménez, Fonnegra, 2007, p.1)

Los primeros conocimientos brindados sobre el uso de plantas medicinales se realizaron oralmente El primer escrito fue realizado hace alrededor de 4000 años atrás, encontrado en una tabla de arcilla perteneciente a las culturas de los sumarios. Los egipcios utilizaron las plantas de

una forma racional y controlada, ellos registraron más de 700 fórmulas las cuales aparecen en papiros; el papiro de Ebers del año 1700 A.C es el más relevante donde se exponen plantas como el azafrano y el ajo. (Jiménez, Fonnegra, 2007, p.1)

En Asia, principalmente en China, la fitoterapia fue utilizada desde el año 5000 A.C, el principal ejemplo es el libro Pen Tsao en el cual se registró el estudio de alrededor de 300 plantas y sus propiedades farmacológicas, las cuales, en la actualidad, en China son pilares fundamentales de los tratamientos de medicina tradicional China. (Jiménez, Fonnegra, 2007, p.1)

La medicina de la India, el uso de las plantas medicinales está registrado dentro de la Ayurveda, donde contiene escrituras desde el año 800 A.C, en las cuales aparecen más de 800 especies vegetales y sus principales usos; entre ellas se encuentra moringa o la cúrcuma. En este documento se puede encontrar consejos acerca de hábitos de vida saludables, entre ellas la alimentación y el ejercicio; esto con el objetivo de alcanzar una vida plena basándose en la religión, la medicina y la filosofía. Adicionalmente ofrece todas las alternativas medicamentosas que se pueden utilizar para el tratamiento de las principales enfermedades enfocadas a la clase más pobre. (Jiménez, Fonnegra, 2007, p.1)

Por otro lado, también se cuenta con documentos de la Antigua Grecia; donde los griegos utilizaban la medicina natural de Mesopotamia y Egipto. Un ejemplo de ello es Hipócrates reconocido como el padre de la medicina donde todo su conocimiento es de gran importancia para la medicina preventiva; en la cual las plantas juegan un papel primordial. Entre sus lemas más representativos se encuentra “Deja que la comida sea tu medicina y tu medicina tu comida” (Hipócrates) (Ríos J, Paris E y Repetto G,2012, pp.5-8)

Dioscórides escribió el primer documento en la época clásica, el cual consistió en cinco volúmenes. En dichos volúmenes se representaba el uso de plantas medicinales desde inicios del 3000a.C. Dioscórides trabajaba con los romanos como botánico, hecho que le ayudó mucho a viajar por diferentes lugares y así mismo pudo realizar el estudio de más de 1000 plantas y muchos principios químicos que en la actualidad son pilares para la fabricación de alternativas de tratamiento usando plantas. Entre las versiones más importantes obtenidas de los volúmenes realizadas por Dioscórides se encuentra “Plantas medicinales, el Dioscórides renovado del farmacéutico” su autor es el Dr Pío Font Quer, en este documento se pueden encontrar 682 especies. (Ríos J, Paris E y Repetto G,2012, pp.5-8)

En la Edad Media el estudio de los medicamentos estuvo a cargo de los monjes, donde los mismo plantaban y experimentaban con las plantas que se habían estudiado en textos clásicos. A finales del siglo VII y principios del siglo VIII Carlomagno decretó una serie de normas encontradas en un acta llamada "capitulare de villis vel curtis imperii" en la cual destacaba en el capítulo 70 un listado de alrededor de 94 plantas cultivadas en jardines de su imperio en donde detalla los fines medicinales y nutricionales de las vegetaciones y flores. (Jiménez, Fonnegra, 2007, p.1)

Por otro lado, también se encontró una fuente que habla acerca del uso medicinal de las plantas. Cuando los europeos llegaron a América se cautivaron por el conocimiento que tenían los nativos del uso de plantas medicinales; los conocimientos estaban en manos de chamanes donde ligaban la curación con magia y las enfermedades eran llamadas "castigos divinos". Un ejemplo de ello se encuentra en la quinua la cual está muy presente en rituales litúrgicos precolombinos lo que llevó a una pérdida de conocimiento en el nuevo continente.

Por lo que el estudio de los conocimientos obtenidos de las diferentes edades ha contribuido en la base de lo que hoy llamamos medicina moderna, donde el uso de las plantas medicinales se encuentra en cualquier lugar ya que el hombre ha necesitado el uso de las mismas para tratar y curar las enfermedades tal información debe salvaguardarse. (Ríos J, Paris E y Repetto G, 2012, pp.5-8)

Antes de empezar a describir la planta debe conocerse un poco acerca del concepto de planta medicinal, los principales beneficios y desventajas que presenta el uso de estos, entre otros temas.

### **Plantas Medicinales y fitofármacos**

Las plantas son seres que crecen, se reproducen y mueren. Existen partes importantes en las plantas tales como: raíces, tallos y las hojas. Cada parte tiene una función diferente; un ejemplo de ello es las raíces las cuales absorben agua o las hojas que realizan fotosíntesis generando muchas sustancias necesarias para la planta. (Acuña, 2011, p.38)

Así mismo, las plantas medicinales durante su vida suelen generar sustancias que contienen principios activos, estas sustancias presentan propiedades farmacológicas ya sean beneficiosas, tóxicas o dañinas para el cuerpo humano. Se puede decir que las plantas medicinales actúan como laboratorios vegetales dedicadas a sintetizar una serie de sustancias que pueden contener proteínas, grasas, azúcares, resinas, vitaminas, aceites esenciales, almidones y minerales. (Acuña, 2011, p.38)

La curación de enfermedades para nuestros antepasados estaba asociada al uso de plantas en su mayoría medicinales; donde esa acción beneficiosa era provocada por las sustancias llamadas principios activos. Al pasar los años, las diferentes culturas han empezado a utilizarlas para diferentes enfermedades; esto, enriqueciendo la investigación botánica ya que se aportaron conocimientos relevantes para la fabricación de fitofármaco en la actualidad. (Obando, 2012, p.24)

El uso de hierbas o plantas en procesos de curación trae muchos beneficios, entre uno de los más importantes es adquirir una mejoría utilizando un sistema de terapia natural, esto ya que las plantas tienen cierta afinidad con el cuerpo del ser humano y de esta forma mantenemos un adecuado equilibrio sin alterar el organismo integral. (Palomino, 2005, p.20)

Las células animales y las vegetales presentan más similitudes que diferencias, un ejemplo de ello es que ambas poseen un ADN cromosomal, funciones reproductivas y ciclos metabólicos. No obstante, las sustancias elaboradas por las plantas son más complejas en comparación con otros productos fabricados en un laboratorio y que podemos adquirir en una farmacia. Por todo lo anterior comentado, obliga a conocer e investigar de forma detallada las plantas (Palomino, 2005, p.20)

Un tratamiento Fito-terapéutico no solo conlleva su función a un componente de su estructura o principio activo, es a la acción de todos sus componentes, es decir la acción curativa de la sumatoria de los componentes que contiene, al interaccionar entre sí, provocando una cura. (Palomino, 2005, p.20)

El uso de plantas medicinales puede contribuir a la curación o tratamiento de diferentes enfermedades, desde el tratamiento del dolor hasta inhibidores del crecimiento de

microorganismo; por lo que detallar los beneficios y desventajas debe ser analizado a la hora de fabricar un fitofármaco.

## **Beneficios y desventajas del uso de plantas medicinales**

### **Desventajas.**

El uso erróneo de fitofármacos puede producir las siguientes desventajas: (Obando, 2012, p.30)

- Pueden producir efectos tóxicos si no se usan en dosis adecuadas o recomendadas.
- Los efectos terapéuticos son más lentos que las drogas fabricadas industrialmente llamadas drogas sintéticas.
- En su proceso de extracción se puede llevar a la pérdida de principios activos o componentes que los acompañen.
- No todas las plantas se pueden encontrar en cualquier época del año.

### **Beneficios.**

Las plantas medicinales presentan beneficios importantes que rescatar en el ámbito gastronómico, farmacológico y agricultura; entre ellos se pueden describir: (Acuña,2011, p.41)

- Como medicamentos suelen ser más baratas en comparación con materia prima para realizar medicamentos sintéticos.
- Resultan menos tóxicas que otros medicamentos.
- Cuando son utilizados como tratamiento de profilaxis o preventivo suele ayudar a disminuir la incidencia de la enfermedad.
- Las plantas son usadas como condimento de los alimentos en la industria alimenticia y casera.
- Utilizados para la elaboración de formas farmacéuticas entre ellas cosméticos.
- En la agricultura adquieren una función como barreras vivas como protección de suelo; es decir, barreras anti erosivas.
- Para elaboración de insecticidas, fungicidas y antibióticos.
- Favorece el crecimiento de otras plantas en huertos y jardines.

- Presentan menos efectos secundarios en comparación con tratamientos sintéticos lo que permite tratamientos más largos.
- Tienden a estimular acciones como la de protección y regulación de diferentes procesos en el organismo.
- Funcionan como complemento de tratamientos con medicamentos utilizados normalmente.

Obando (2012, p.27) describe en su tesis la definición de droga vegetal, la cual puede describirse como la parte de la planta que tiene una acción farmacológica y, por otro lado, los principios activos son todas las sustancias responsables para obtener este efecto deseado. Es decir, uno abarca más a una parte específica de la planta y el otro a los componentes que vamos a extraer para potenciar un efecto. La formación de los principios activos abarca una serie de procesos, en los cuales se obtendrán metabolitos primarios y secundarios, los cuales se van a describir a continuación.

### **Formación de principios activos**

Las plantas se van a clasificar según su funcionamiento, sus principios activos son los responsables de dar una respuesta farmacológica conocida o no conocida, por lo que están directamente implicados en esta clasificación. Una de las partes donde se inicia todo el proceso de síntesis de principios activos es la raíz en la cual se absorbe el agua, las sales minerales y nitratos y estos materiales son repartidos por toda la planta según las necesidades de la misma. En las hojas se realizan la mayor parte de los procesos metabólicos, un ejemplo de ello: los complejos nitrogenados, los cuales son indispensables para la vida de la planta y otros como alcaloides que entregan energía. (Obando,2012, p.55)

Adicionalmente, en las hojas se realiza la fotosíntesis, donde se absorbe la luz solar y el anhídrido carbónico del aire ( $\text{CO}_2$ ) y fabrica glucosa para elaborar productos alimenticios, prótidos, glúcidos, lípidos, ácidos orgánicos, vitaminas y los principios activos. Estas sustancias se pueden llamar metabolitos primarios y secundarios. (Obando,2012, p.55)

### **Metabolitos primarios y secundarios en las plantas medicinales.**

El origen biosintético está compuesto por principios activos que se pueden clasificar en dos grupos:

- Productos obtenidos en el metabolismo primario llamados metabolitos primarios.
- Productos obtenidos en el metabolismo secundario de la planta llamados metabolitos secundarios.

#### ***Productos del metabolismo primario.***

Los productos del metabolismo primario pueden encontrarse en todas las plantas y de ello se obtienen los llamados metabolitos secundarios; son importantes para que en la planta se pueda llevar a cabo el metabolismo. Entre los principales compuestos están: las proteínas, los ácidos nucleicos y fuente de carbono y lípidos. (Obando,2012, p.28)

#### ***Productos del metabolismo secundario.***

Los metabolitos secundarios están relacionados con el sistema de defensa o de excreción de las plantas, entre ellos se encuentra los aceites esenciales responsables del olor, sabor y color de la planta y de sus propiedades medicinales. (Obando,2012, p.28).

Los metabolitos secundarios se clasifican en:

- Compuestos terpénicos, los cuales se obtiene a partir de la vía del mevalonato.
- Compuestos fenólicos, sintetizados a partir de la vía de sikimato y la de los acetatos.
- Compuestos nitrogenados, formados a partir de aminoácidos.

Estos productos son utilizados para la síntesis de aceites esenciales, los cuales se obtienen la mayoría de veces a partir de metabolitos secundarios. Los aceites esenciales contienen ciertas características químicas como sus compuestos terpenoides y no terpenoides.

## **Aceites esenciales**

Los aceites esenciales y extractos de plantas se han utilizado desde hace mucho tiempo para obtener aromas y sabores. En la actualidad se han empezado a estudiar los extractos desde un punto de vista funcional; en otras palabras, se han estudiado los extractos o aceites como agentes antimicrobianos, algunos como agentes antioxidantes o que aportan nutrientes (Peredo, García y López, 2009, pp.24-32)

Según el autor Sánchez (2016), los aceites esenciales se encuentran en distintas partes de una planta, y pueden ser extraídos de cualquier estructura anatómica vegetal (p.15). El método de extracción es el que determina el uso, un disolvente puede contaminar o limitar el uso del mismo. De igual forma es importante conocer la toxicidad del disolvente y, así mismo, conocer cuál es la mejor técnica de eliminación (Peredo, García y López, 2009, pp.24-32)

Estos suelen ser altamente olorosos y sumamente volátiles, pueden ser bastante grasos y con apariencia muy parecida al agua. La composición química generalmente contiene alcoholes, ésteres, cetonas, aldehídos y terpenos. Las sustancias odoríferas se forman en los cloroplastos de las hojas. El material vegetal se somete a lavado con los disolventes idóneos, como alcohol y la esencia queda disuelta en él. Se separa sometiendo el líquido a destilación a una temperatura precisa que condense el aceite, pero no el disolvente y, finalmente, el aceite obtenido recibe el nombre de absoluto. (Tisserand, 2007, pp.19-20)

Las propiedades antibacterianas y antimicóticas de algunos aceites esenciales actúan en forma de defensa contra patógenos de la planta. Por lo que extraer estas en su forma purificada puede ser provechoso en las pruebas microbianas que se le realizan al aceite, porque presentan una gran opción alternativa y hasta preventiva ya que son estimulantes; la mayoría de estos son bactericida y antisépticos. (Sánchez, 2016, pp. 15-50)

Se pueden utilizar de diferentes formas entre ellas; consumo de alimentos, artículos de limpieza y medicinas. Un ejemplo de ello es la utilización del aceite esencial a través de la piel estos aceites pasan rápidamente al tejido muscular y las articulaciones y posteriormente se encuentra en el torrente sanguíneo, se utilizan en técnicas de masaje y también mediante inhalación de vapor, este pasa directamente al pulmón, seguidamente se liberan hormonas que

empiezan a funcionar en la circulación ya que tiene efectos mentales y emocionales. (Sánchez, 2016, pp. 15-50)

Los aceites esenciales pueden clasificarse según características físicas y características químicas; gracias a estas características puede verificarse experimentalmente que se obtuvo todos los principios activos que se requieren para que ejerza una acción terapéutica.

### **Características físicas de los aceites esenciales.**

Entre las principales características físicas que se pueden obtener en un aceite esencial se encuentran: (Acuña, 2011, pp.44-45)

- Los aceites esenciales son volátiles y líquidos a temperatura ambiente.
- Cuando se extraen suelen ser incoloros o con una tonalidad ligeramente amarillenta.
- La densidad de estos en comparación con la del agua es menor, aunque existen excepciones como por ejemplo el aceite esencial extraído del clavo de olor.
- Son liposolubles, pero muy poco solubles en agua, aunque son arrastrables por el vapor de agua
- Son altamente solubles en alcoholes y disolventes orgánicos como, por ejemplo: éter y cloroformo.

### **Características químicas de los aceites esenciales.**

Los aceites esenciales se clasifican en terpenoides y no terpenoides.

#### ***terpenoides.***

Estos suelen ser los más abundantes y de gran importancia a nivel comercial por sus propiedades. Estos derivan de la unidad isoprenica que es una unidad de cinco carbonos unida por una cadena. Estos pueden ser alifáticos, cíclicos o aromáticos. Principalmente la encontramos en aceites mono terpenos, en sesquiterpenos y diterpenos. (Acuña, 2011, p. 46)

***no terpenoides.***

Se encuentran sustancias de cadena corta, son sustancias aromáticas o alifáticas y estas no suelen ser tan importantes como lo son los terpenoides. ya que su uso y aplicaciones es limitado. (Acuña, 2011, p. 45)

El aceite esencial puede contener compuestos orgánicos como, por ejemplo: hidrocarburos monoterpenicos, alcoholes, aldehídos, fenoles, cetonas, éteres y ésteres los cuales se van a comentar a continuación. Todo lo anterior fue encontrado en (Acuña, 2011, pp.45-49)

**Componentes de los aceites esenciales****Hidrocarburos monoterpenicos.**

Son los compuestos más abundantes que se encuentran en los aceites esenciales, y los principales precursores de terpenos oxidados

**Alcoholes.**

Caracterizados por darle el sabor u olor a la planta entre ellos podemos encontrar: el linalol que les da el sabor a las hojas de té, el tomillo y el cardomomo. También encontramos el mentol que le da las características a la menta. Un aceite esencial se puede obtener hasta un 50% de este componente. Sus propiedades antisépticas, antifúngicas, antibacterianas y antibióticos son altas. Los alcoholes estimulan el sistema nervioso en el cuerpo.

**Aldehídos.**

Lo aldehídos son compuestos altamente reactivos. Se pueden encontrar en los cítricos y estos son los responsables del olor en los mismos. Estos compuestos tienen propiedades antivirales, antimicrobianas, sedantes y antiinflamatorio; sin embargo, este compuesto puede ser irritante para la piel.

**Fenoles.**

No son muy abundantes, por lo que se encuentran en pocas especies vegetales, este compuesto tiende a ser muy potente y a su vez irritante. Entre sus propiedades se encuentra

bactericida; anestésico Entre ellos se encuentra el timol y el carvacrol obtenidos de las plantas de tomillo y el orégano.

### **Cetonas.**

Las propiedades de las cetonas son: relajante muscular, cicatrizante de tejidos, fortalece el sistema inmunológico, entre otras. Se sintetizan a partir de la oxidación de alcoholes. La desventaja que presentan estos compuestos es que pueden provocar convulsiones, aborto involuntario y epilepsia.

### **Éteres.**

Las propiedades que presentan son antiespasmódico, antibacterianas y antiinflamatorios; estos son suaves para la piel y pueden provocar un reequilibrio del sistema nervioso. Estos compuestos son altamente reactivos e inestables, El eucalipto contiene una gran cantidad de 1,8-cineol, también llamado eucaliptol y es componente principal del aceite de eucalipto, este compuesto es expectorante y mucolítico.

### **Ésteres.**

La mayoría de éteres se sintetiza a partir de la reacción de alcoholes terpenicos con ácido acético. Su aroma es característico en los aceites esenciales que lo presentan. Un ejemplo es el aceite de la lavanda que contiene linalol y su éster el cual es acetato de linalilo.

La planta con la que se va a trabajar en esta investigación es el eucalipto, por lo que se brindarán todos los datos relevantes que se deben saber sobre esta planta. Tales como su taxonomía, forma de destilación, utilización, componentes más importantes en su aceite esencial, características químicas y antecedentes del uso de la planta.

## **Eucalipto**

En esta sección se van a exponer puntos importantes referentes a la planta que se utilizará en el estudio la cual será el eucalipto; tomando puntos como su clasificación científica, descripción, uso, componentes químicos y físicos que encontraremos en el aceite que se extraerá

experimentalmente en el laboratorio: Así mismo, se describirán los diferentes procesos con los que se va realizar la extracción del aceite esencial.

### **Nombre científico**

*Eucaliptus Globulus*

### **Nombre común**

Eucalipto

### **Clasificación científica**

Tabla 1. Clasificación científica

<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsia
<b>Subclase</b>	Rosidae
<b>Orden</b>	Myrtales
<b>Familia</b>	Myrtaceae
<b>Género</b>	Eucaliptus
<b>Especie</b>	<i>Eucalyptus globulus</i>

Fuente obtenida de Ministerio de Agricultura (1978)

Ilustración 1. Árbol de *Eucaliptus globulus*



Fuente: obtenida de Ministerio de economía, industria y cooperativa (2012)

### **Descripción botánica**

El eucalipto es un árbol verde que puede superar los 100 metros de altura, es de rápido crecimiento. Su tronco es de apariencia lisa y grueso, el color de su tallo es ceniciento; sus ramas son potentes. Las hojas son de diferentes formas, muy aromáticas, colgantes, lanceoladas y brillantes. Sus flores son grandes de color blancuzco, grandes y solitarias. Los frutos agrupados de 3 a 4 donde están las semillas en gran número y de color marrón. El olor que se puede apreciar que expulsa el árbol es muy aromático especialmente las ramas tiernas, aunque su sabor es amargo. (Acuña, 2011, p.66)

Ilustración 2.Hojas con el fruto de la especie *E.globulus*.



Fuente: obtenido de [http://www.plantasyhongos.es/herbarium/htm/Eucalyptus\\_globulus.htm](http://www.plantasyhongos.es/herbarium/htm/Eucalyptus_globulus.htm)

El eucalipto es un árbol verde, puede superar los 100 m de altura, su tronco liso u de color ceniciento, posee un tallo grueso y ramas abundantes. El origen de la planta eucaliptos es de origen griego y significa “Eu” (bien) y “Kalypto” (cubierto). Su origen es australiano y este fue introducido en Europa como especies ornamentales en el año 1788, en este mismo año se descubrió que inhibía el crecimiento de otras plantas diferentes a este, este hecho se le otorgó porque difunde veneno en el terreno. (Acuña, 2011, p.65)

### **Utilidad**

La parte aprobada que es la causante del aporte terapéutico son las hojas y su aceite esencial se puede obtener mediante diferentes métodos de extracción como, por ejemplo: infusión, decocción o destilación. (Obando. 2012, p. 33)

El aceite de eucalipto posee acción antiséptica, especialmente en las vías respiratorias. Indicado para el tratamiento de la gripe, resfriados, faringitis, bronquitis, asma, rinitis, sinusitis, antiviral y bactericida descongestivo. Adicionalmente presenta un efecto mucolítico, expectorante hipoglucemiante, antihelmíntico, antiespasmódico. (Acuña, 2011, p.66)

Frotándolo sobre el pecho y los senos nasales se usa como anestésico local para afectar afecciones a nivel respiratorio. Para eliminar los estafilococos se recomienda quemar el aceite de eucalipto. (Obando, 2012, p.33)

El uso externo es antiséptico, antiinflamatorio y cicatrizante; indicado para eczemas, irritaciones cutáneas, heridas, vulvovaginitis, analgésico antirreumático, insecticidas en erupciones como herpes y altamente eficaz en quemaduras que se forman por bacterias. (Acuña, 2011, p.66)

En el tratamiento homeopático del aceite obtenido a partir del eucalipto se usa para combatir enfermedades en vías respiratorias, renales y urinarias. Así mismo, también es utilizado en tuberculosis y afecciones en pelvis. (Obando,2012, p.33)

No se debe utilizar oralmente durante el embarazo, lactancia y niños menores de seis años. También cuando se haya sufrido hipersensibilidad a aceites esenciales. Se han encontrado datos donde demuestra que aumenta la función hepática. Está contraindicado cuando existen inflamaciones en el tracto gastrointestinal, vías biliares o hepatopatías (Acuña,2011, p. 67)

### **Descripción del extracto**

La recolección del extracto es a partir de las hojas del eucalipto

#### **Características físicas.**

El color del aceite esencial deberá ser ligeramente amarillento o transparente, con su olor característico del eucalipto

#### **Características químicas.**

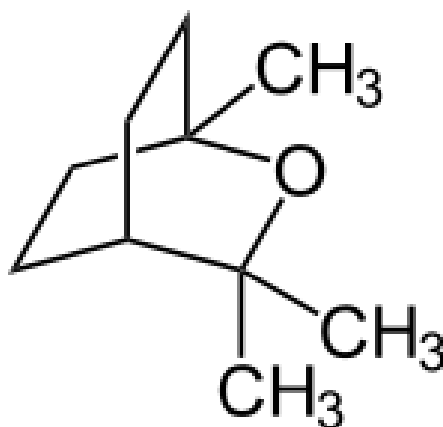
El aceite esencial tiene como componente principal el 1,8-cineol o también llamado eucaliptol. Además, contiene fenoles como gálico, gentísico, cafeico y ferúlico. Por otro lado, podemos encontrar falvonoides como rutosido, isoquercitrosidos, hiperoxido. (Obando, 2011, p. 32)

*componentes.*Tabla 2. Componentes del extracto de *Eucalypto globulus*.

Componentes	Cantidad relativa
<b>Cineol o eucaliptol</b>	95%
<b>Monoterpenos: limoneno y felandreno</b>	25%
<b>Aldehidos: butiraldehido, capronaldehido azuleno</b>	En pequeña cantidad
<b>Taninos</b>	En pequeña cantidad
<b>Resinas</b>	En pequeña cantidad
<b>Flavona: eucaliptina</b>	En pequeña cantidad

Fuente obtenida de Acuña 2011

Ilustración 3. Molécula del 1,8-cineol o eucaliptol

Fuente: obtenido de <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:1,8-Cineol2.svg>

*características del aceite de eucalipto.*

Tabla 3. Características del aceite de eucalipto

<b>Punto de ebullición</b>	176°C
<b>PH</b>	Entre 4,5 y 6
<b>Solubilidad</b>	Miscible con el etanol, cloroformo, éter; insoluble con el agua.

Fuente obtenida de Acuña 2011

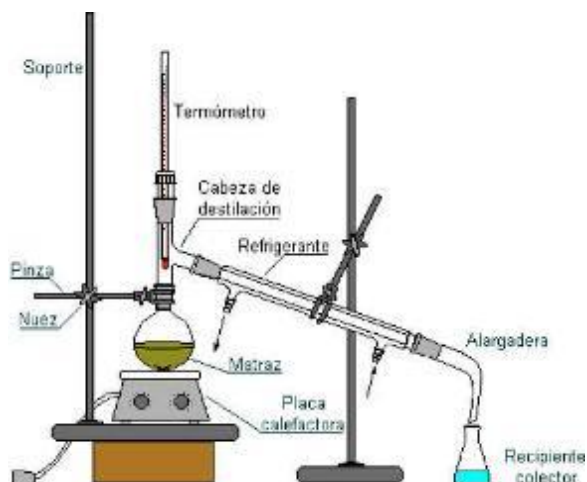
El aceite esencial se va a obtener mediante el proceso y se obtendrá por medio de diferentes disolventes y finalmente se comparará cuál de ellos tuvo un mejor porcentaje de rendimiento. Entre los métodos que se realizan experimentalmente se encuentran:

### **Métodos de extracción**

#### **Destilación simple.**

La destilación simple en un proceso experimental se basa en calentar un líquido hasta que todos los componentes se evaporen y al pasar por el condensador, se enfrían estos vapores y se convierten en estado líquido; esto aplicando un calor determinado. Así mismo, la separación de los componentes, utilizando las distintas volatilidades de cada uno de los componentes o principios activos que posee la materia vegetal de elección. (Obando, 2012, p.39)

Ilustración 4. Destilación simple.



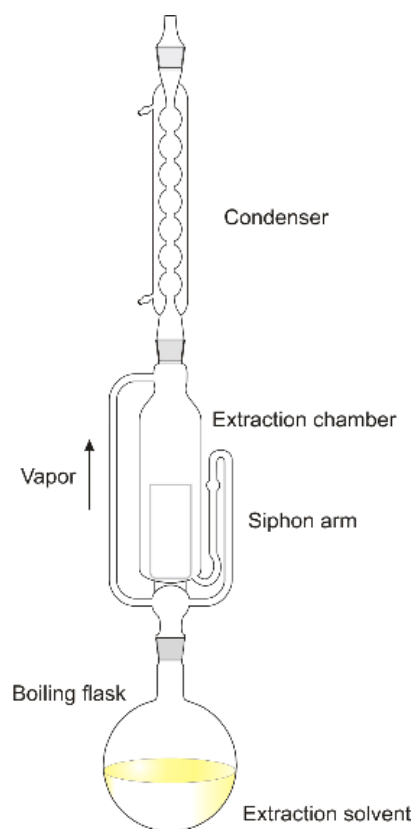
Fuente: Sánchez y Anaya (2014)

En la figura se puede explicar más detalladamente el procedimiento; en donde los vapores se separan y se condensan y la cantidad de líquido que contiene el matraz de destilación se va disminuyendo progresivamente en forma de vapor y cuando pasa por el refrigerante este se condensa para formar líquido nuevamente.

### **Destilación continúa usando método Soxhlet.**

El método Soxhlet permite hacer una separación de un matraz sólido a un matraz líquida. En dicho método el matraz se calienta y se evapora el disolvente pasando por un condensador y cae finalmente en forma de gota a gota. Cuando se acumula gran cantidad de disolvente en el condensador, este sale por una válvula y vuelve a caer en el matraz inferior, repitiendo esto el tiempo necesario. (Acuña, 2011, p. 51)

Ilustración 5. Método de Soxhlet



Fuente: Croatian-English Chemistry Dictionary & Glossary. 2017

### **Maceración.**

La maceración es un proceso de extracción sólido- líquido. La materia vegetal posee una cantidad de compuestos solubles que al colocarse en un medio suelen eliminar el aceite esencial. En este caso, la sustancia que se usa para extraer puede ser agua, alcohol u otros disolventes. (Carrión y Gracia, 2010, p.15)

Sin embargo, existen ocasiones donde en el proceso no se extraen los compuestos que se desean. Cada vez que se realiza este método se deberá secarse el solvente ya sea dejando el recipiente al sol o aplicándole calor. (Carrión y Gracia, 2010, p.15)

Ilustración 6. Método de extracción (maceración)



Fuente: Ceballo 2016

La materia vegetal debe estar limpia y completamente triturada, picada o macerada. Se debe colocar una cantidad bastante grande del material vegetal y agregar el solvente escogido. Se debe dejar tapado por un mínimo de 24 horas o un máximo de dos semanas. Transcurrido el tiempo se pasa por un colador. Cabe recalcar que se debe evitar la fermentación del principio activo o a su vez, la formación de moho. (Obando, 2011, p.42)

### **Método para identificación de sus componentes**

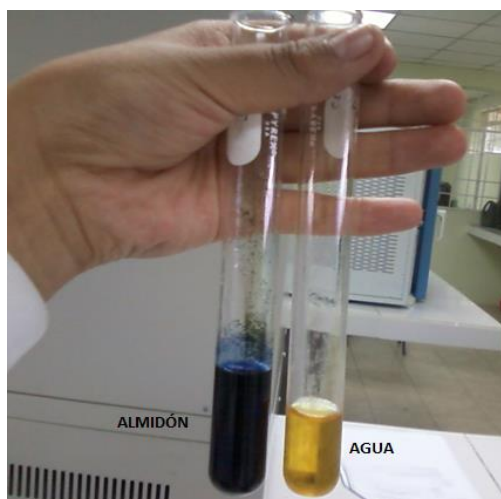
Al obtener el aceite de eucalipto deberá verificarse que el mismo contenga los componentes que se necesitan para poder obtener una acción farmacológica. Entre ellos se encuentra:

#### **Reacciones de coloración o precipitación.**

Es un tipo de reacción simple en la cual se identificará un componente de la esencia que contienen el principio activo de interés. Sirve para detectar alcaloides, heterósidos, flavonoides y taninos. Estas pruebas se deben aplicar en el laboratorio con el extracto obtenido mediante la

extracción. A continuación, se mencionarán algunas pruebas de coloración que se pueden aplicar: (Obando, 2012, pp.53-54)

Ilustración 7. Ejemplo de prueba de cambio de color. Reacción positiva a la presencia de almidón.



Fuente: Aguilar, Carillo, Díaz, Parreño y Vallejo, 2014

### *alcaloides.*

Se evapora la muestra que se seque, se puede detectar un olor a amoníaco. Cuando la muestra se encuentra seca se le agrega ácido clorhídrico y se agita. La fase acuosa se alcaliniza y se extrae y se analizan las tres fases por separado.

### *saponinas y esteroles.*

La muestra vegetal obtenida se hidroliza, se concentra y se extrae el acetato de etilo o cloroformo. La fase orgánica posee saponinas que al agregarle el reactivo de Liebermann-Burchard, se torna a una coloración azul o violeta, dicho cambio indica presencia de saponinas en el extracto.

***flavonoides.***

El extracto se seca y se desgrasa con éter de petróleo y se trata con ácido clorhídrico concentrado. Resultado positivo si el extracto adquiere una coloración roja al dejar el extracto en reposo alrededor de diez a veinte minutos.

***taninos.***

Seguidamente de evaporar la muestra, se le agrega agua y cloruro férrico. La prueba indica un positivo si adquiere una coloración marrón; indicando presencia de taninos y polifenoles.

***antraquinonas.***

Se extrae el material con hidróxido de potasio, se filtra y se acidifica con ácido acético y se agita agregándole benceno, poco a poco. La fase orgánica toma una coloración roja al alcalizar con hidróxido de amonio esto indica resultado positivo a la presencia de antraquinonas.

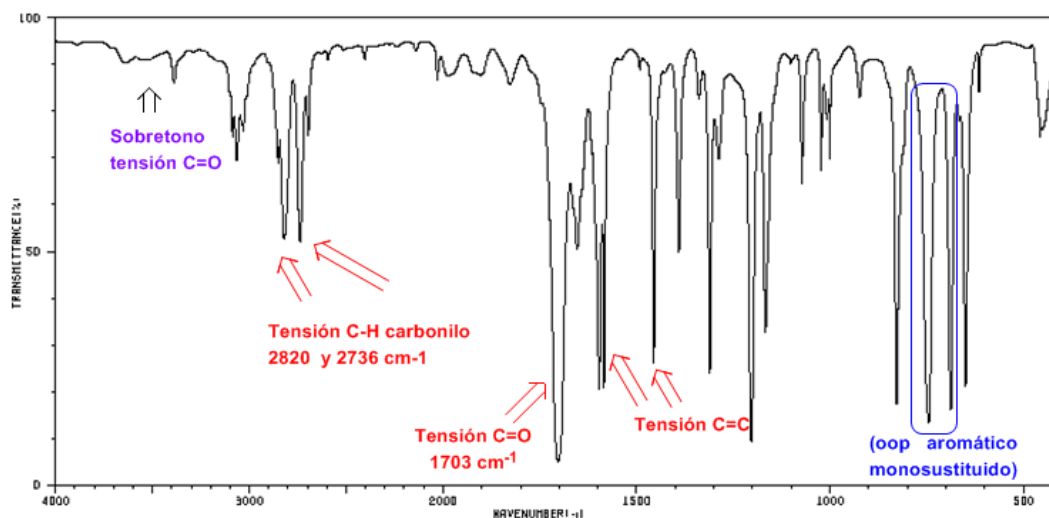
**Espectro infrarrojo.**

Esta técnica ha llegado a transformarse en una de las técnicas más importantes para determinar la estructura molecular. Al mismo tiempo que, por sus ventajas, se ha convertido en la principal herramienta en el laboratorio químico. (Obando, 2012, pp.54-55)

Las moléculas suelen mantenerse en constante movimiento, estas rotan o vibran; cada movimiento tiene niveles de energía por lo que la espectroscopia infrarroja estudia dicho acontecimiento. La frecuencia con las que ocurre estas vibraciones dependerá de las superficies de la energía potencial de la molecular y las masas de los átomos. (Obando, 2012, pp.54-55)

El infrarrojo permite detectar presencia de grupos hidroxilo, carbonilo, anillos aromáticos, enlaces dobles, entre otros. Para ello se debe colocar una gota en una celda de NaCl (cloruro de sodio). El IR de una molécula es como su “DNI” característica de ella y, finalmente, se debe analizar y comparar los resultados obtenidos. (Acuña,2011, pp.54-55)

Ilustración 8. Espectro obtenido para aldehídos



Fuente: obtenido de Fernández s.f

### Espectro ultravioleta.

El espectro UV permite reconocer los grupos funcionales que presenta una sustancia determinada. Este método se basa en detectar las transiciones electrónicas; es decir, en otras palabras, el movimiento de los electrones de un nivel de energía a otro. El aparato utiliza radiación electromagnética en las regiones visible y ultravioleta cercana del espectro electromagnético. (Obando, 2012, p. 55)

Finalmente, la radiación absorbida por las moléculas provoca transiciones electrónicas que son cuantificados por el aparato, un ejemplo de ello es: el limoneno presenta una absorción en 263 nm. (Acuña, 2011, p.56)

En conclusión, la espectroscopia visible se utiliza para identificar grupos funcionales de moléculas y para adicionalmente determinar el contenido y la fuerza de estos componentes en las sustancias.

### Espectroscopia de masas

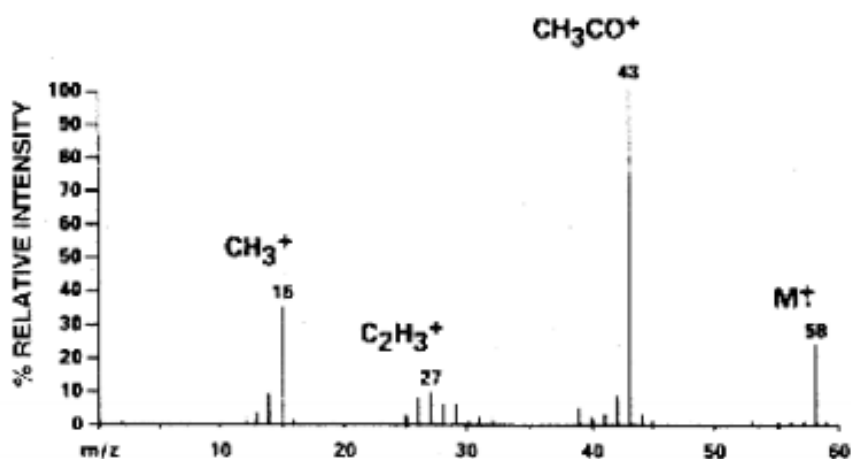
Esta técnica es una poderosa técnica micro analítica usada para identificar compuestos desconocidos, para cuantificar los compuestos conocidos y conocer las estructuras y propiedades

químicas de moléculas. Para cuantificar una sustancia se necesitan pequeñas cantidades de la muestra. (Placencia, 2003, p.3)

El proceso empieza llevando el compuesto a fase gaseosa, el proceso de ionización más común es análisis en fase gaseosa con la ionización electrónica, el cual transfiere energía a la molécula. La molécula puede obtener un exceso de energía lo que provoca un rompimiento de los enlaces químicos. (Placencia, 2003, p.3)

Los iones son analizados de acuerdo a la abundancia a lo largo de escala, pueden ser organizados en forma tabular o en formato de barras para dar finalmente el espectro de masas de la muestra analizada. (Placencia, 2003, p.3)

Ilustración 9. Espectro de masas



Fuente: Placencia, 2003, p.32

### *Streptococcus pyogenes*

En este apartado se discutirá lo más importante y relacionado a estreptococos pyogenes como, por ejemplo: historia, resistencia encontrada, su clasificación y toda la información relevante que pueda funcionar para realizar el trabajo de investigación.

Estreptococos es un grupo biológico grande y diverso de cocos Gram positivos que proliferan en pares o en cadenas. Dentro de las enfermedades más importantes que causan los microorganismos de este género se encuentra: faringitis estreptocócica, fiebre escarlatina, impétigo, infecciones del tracto urinario y endocarditis bacteriana. (Argudo,2001, pp.6-11)

En la actualidad se reconocen unas 27 especies incluidas en el género de estreptococos y algunas de ellas suelen ser muy patógenas. Entre las más importantes son streptococcus pyogenes (grupo A), streptococcus agalactiae /grupo B), estreptococcus facalis (grupo D), estreptococcus. pneumoniae y otros orales. (Argudo,2001, pp.6-11)

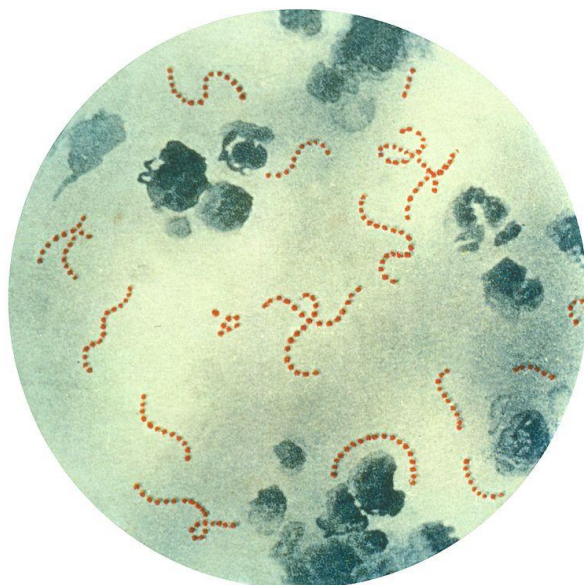
El streptococcus pyogenes es una de las especies más importantes de la familia de los estreptococos, la cual presenta un antígeno A en su pared celular y hace hemólisis tipo beta-hemolítico. Este microorganismo es el principal causal de faringitis bacteriana, enfermedades necrosantes y sistémicas. (Morales, 2012, p.65)

#### **Historia**

Se descubrió en 1874, cuando Billroth lo describe en casos reportados de erisipela y en infecciones de heridas, cutáneas y sistémicas. En 1879, Pasteur lo aísla de la sangre de un paciente con sepsis puerperal. La primera vez que se habla de s.pyoegnes es en 1884 por Rosenbach y hasta 1903 donde los estrptococos no se clasifican según su producción de hemólisis.(Robles, 2014,p.1)

En el año 1993, el científico Lancefield los agrupa en la clasificación de la categoría A, donde las infecciones causadas por este microorganismo son bastante frecuentes y suelen presentarse frecuentemente en niños de 4 a 7 años. (Robles, 2014, p.1)

Ilustración 10. *Streptococcus pyogenes*



Fuente: Morales, 2012

Tabla 4. Clasificación científica.

<b>Dominio</b>	Bacteria
<b>Filo</b>	Firmicutes
<b>Clase</b>	Bacilli
<b>Orden</b>	Lactobacillales
<b>Familia</b>	Streptococcaceae
<b>Genero</b>	Streptococcus
<b>Especie</b>	<i>S.pyogenes</i>

Fuente: Morales, 2012, p.65

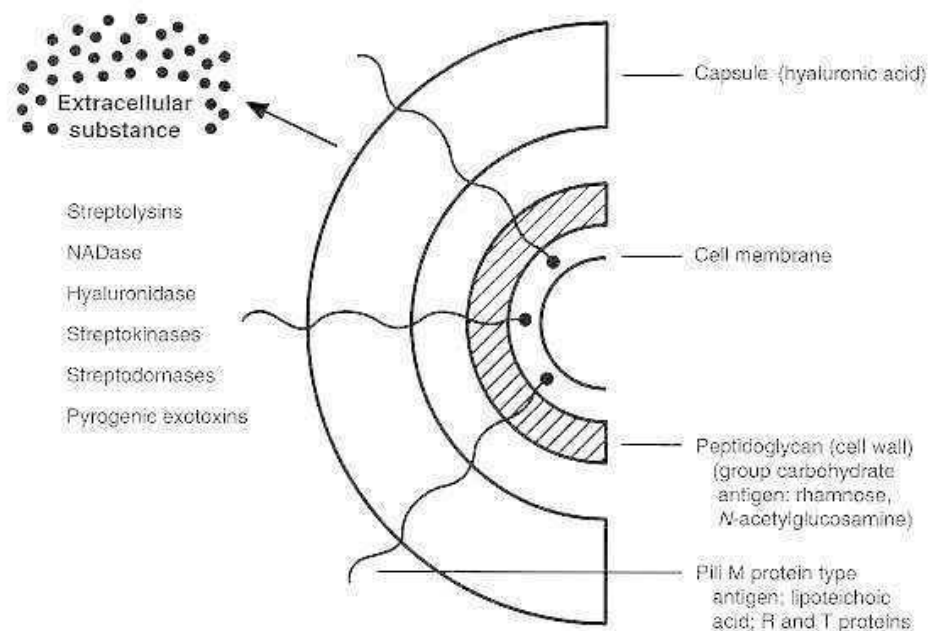
## **Fisiología y estructura**

*S.pyogenes* son cocos esféricos, es decir, de forma ovalada con un tamaño cercano de 0.5 a 1.0 mm, cuando estos proliferan forman cadenas cortas o pares, el tamaño de la cadena va a depender de la especie y el medio de cultivo. Los estreptococos son anaerobios con metabolismo fermentativo, la fermentación no produce ningún gas. en las muestras clínicas y cadenas más largas cuando crecen en medio de cultivo. (Argudo,2001, pp.6-11)

El crecimiento adecuado es el agar sangre enriquecido, esto debido a la hemolisis que produce en el agar sangre. Algunos estreptococcus producen una zona clara de hemolisis; otros una hemolisis parcial presentando una coloración verdosa, mientras otras no producen hemolisis. El crecimiento de la bacteria se puede inhibir si el medio contiene una concentración elevada de glucosa. Después de 24 horas de incubación se observan colonias blancas de 1 a 2 mm con grandes zonas de beta hemolisis. (Argudo,2001, pp.6-11)

La ultra estructura de los estreptococos pyogenes es típica de una bacteria gram positiva por su pared rígida, su membrana plasmática interna con vesículas mesosómicas y ribosomas citoplasmáticos y nucleoides. Así mismo, por fuera de la pared celular se encuentran apéndices similares a fimbrias que contienen la proteína M específica. Los requerimientos nutricionales son complejos a causa de la incapacidad del microorganismo para sintetizar aminoácidos, purinas, pirimidinas y vitaminas que necesita. Este puede morir a temperaturas altas alrededor de 60C que no poseen los del grupo D. (Argudo,2001, pp.6-11)

Ilustración 11. Estructura del s.pyogenes



Fuente obtenida de Morales, 2012

### Patogenia e inmunidad

El desarrollo del proceso infeccioso se debe a la virulencia del microorganismo, esta adhesión al huésped está medida por más de diez antígenos que se encuentran dentro del estreptococcus del grupo A, entre ellos se encuentra: el ácido teicoico, proteína M y la proteína F. Primeramente, la adherencia inicia con los ácidos grasos en las células epiteliales y posteriormente intervienen las proteínas M y F. (Morales,2012, p.59)

### Hidratos de carbono

Es un antígeno específico del grupo A, es un dímero de N- acetilglucosamina y representa el 10% del peso de la bacteria (Morales,2012, p.58)

### **Proteínas específicas de tipo**

También llamada la proteína M que es codificada por el gen en el extremo del carbonilo se encuentra unido a la membrana cito plasmática, posteriormente atraviesa la pared celular sobrealiento el extremo amino. Presentan dos tipos de antígenos, ambos producen infecciones supurativas y glomerulonefritis pero solo el antígeno I produce fiebre reumática. (Morales,2012, p.58)

### **Otros componentes de la superficie**

Para el autor Morales (2012, p.59), además se puede encontrar otras proteínas como el ácido teicoico y la proteína F que se encarga de facilitar la unión de la bacteria a la superficie del huésped formando un complejo con la fibronectina que se encuentra en la superficie de la célula.

### **Cápsula**

En la estructura de las bacterias puede encontrarse una cápsula constituida principalmente de ácido hialurónico, esta evita la fagocitosis de las bacterias, el sistema inmune le imposibilita diferenciar el ácido hialurónico del tejido conjuntivo de los mamíferos. ((Morales,2012, p.59)

### **Características del cultivo e identificación**

Para un correcto aislamiento del estreptococcus del grupo A, los materiales se prefieren que tengan los medios que contienen sangre y sus derivados El pH óptimo para la proliferación es de 7.4-7.6 a 37 C. La mayor parte de los estreptococos de grupo A son hemolíticos en los cuales se debe usar sangre en su medio de cultivo. Después de las 18 y 24 horas, la proliferación en agar sangre de s.pyogenes las colonias miden 0.5 mm de diámetro son redondeadas y presenta un color grisáceo.

Ilustración 12. Cultivo de s.pyogenes en agar sangre



Fuente: López y García (2016)

### **Epidemiología**

Al año se reportan muchos casos de enfermedades invasivas debido a este microorganismo, por ejemplo, el síndrome del shock tóxico estreptocócico presenta una tasa de mortalidad de 45% de los casos y la fascitis necrosante presenta una mortalidad de 25%. Por otro lado, también se presentan enfermedades no invasivas como faringitis y pioderma. (Morales,2012, pp.62-63)

El streptococcus pyogenes puede colonizar muy rápidamente y fácilmente la bucofaringe de niños sanos y adultos jóvenes, el problema de esta especie es que pueden infectar la faringe antes de que desarrollen los anticuerpos específicos para la bacteria. Produce faringitis en una población que va entre los 5 a los 15 años; sin embargo, también puede desarrollarse en lactantes

y adultos mayores, pacientes inmunosupresores por lo que puede infectar a todos los individuos. Esta enfermedad suele transmitirse de persona a persona mediante gotitas respiratorias. (Morales,2012, pp.62-63)

La pioderma estreptocócica o también llamada impétigo es una patología que predomina en los climas templados y ocurre con más frecuencia a fines del verano y comienzo del otoño. Inicialmente, los microorganismos colonizan la piel y después aparecen en la faringe. (Argudo, 2001, p. 24-35)

## **Manifestaciones clínicas**

### **Faringitis estreptocócica**

Esta patología se basa en la colonización de la faringe y las amígdalas, cuando la bacteria entra en contacto, los síntomas se empiezan a desarrollar de 2 a 4 días. La infección faríngea puede ser asintomática o se puede presentar síntomas como fiebre, escalofríos, cefalea, malestar general, náuseas y vómitos. (valenciano, 2009, p.68)

La faringe puede ser un poco eritematosa o muy enrojecida con exudado amarillo grisáceo. Por lo general se observa adenopatías cervicales anterior y leucocitosis. La faringitis estreptocócica se diferencia ya que esta presenta manifestaciones como exudados, para un diagnóstico específico de la enfermedad se debe hacer pruebas serológicas y bacteriológicas. (valenciano, 2009, p.68)

Ilustración 13. Faringitis estreptocócica



Fuente obtenida de: Mayo clinic 2017

Según Morales (2012, pp.64-65), cuando *streptococcus pyogenes* genera exotoxina pirógena genera una complicación conocida como escarlatina que se logra caracterizar:

1. Exantema eritematoso difuso en tórax y extremidades
2. Palidez que puede presentarse en palmas y las plantas de los pies
3. Lengua color fresa con exudados color amarillo
4. Líneas de pastia que se caracteriza por palidez con la presión

Ilustración 14. Escarlatina en lengua



Fuente obtenida de Bartra 2016

Al desarrollar faringitis estreptocócica se pueden presentar complicaciones en el paciente como por ejemplo la fiebre reumática y la glomerulonefritis aguda.

### **Fiebre reumática**

Esta enfermedad se caracteriza por producir una inflamación del corazón, produce una pancarditis que se manifiesta como una endocarditis, pericarditis o miocarditis. En ocasiones puede producir un daño en las válvulas cardiacas, puede afectar las articulaciones y desarrollar artralgia o artritis (Morales, 2012, p.66)

### **Glomerulonefritis post estreptocócica**

Es debido a un trastorno renal que ocurre después de la infección, con ciertas de cepas de la bacteria estreptococo. Los principales síntomas asociados a la glomerulonefritis son: una hinchazón, orina de color rojizo, sangre en la orina visible y dolor articular. (valencia, 2009, pp.27-29)

Se puede presentar 10 días después de una faringoamigdalitis estreptocócica y 3 a 6 semanas de una infección cutánea por cepas de s.pyogenes llamada “nefritogenas”. Es una enfermedad inflamatoria del glomérulo renal que se puede dar por lesiones glomerulares difusas, hipertensión, hematuria y proteinuria. (valencia, 2009, pp.27-29)

## **Infecciones en la piel**

### **Impétigo**

El impétigo es una infección muy frecuente en la infancia, principalmente en la edad preescolar. Existen dos formas clínicas de impétigo, el impétigo buloso y el no buloso. El buloso se caracteriza ya que este presenta bulas de 5-30 mm de diámetro, estas se rompen fácilmente originando una costra fina que se descama. El impétigo no buloso comienza con lesiones vesiculares o postulares de 1 a 4 mm que se rompen dando origen a costras gruesas. Estas lesiones pueden encontrarse en cara y extremidades, En ambas puede encontrar dolor y fiebre local. (Morayo, Peuchot, Giachettu, Moreno, Cancelara, Corazza y Calvan, 2014, p-6-7 )

Esta patología se asocia a dos microorganismos causales; en la década de los 40,50 y 60 el agente causal era S. aureus, después en los años 70 se descubrió que el agente causal era

S.pyogenes. Clínicamente no se puede distinguir un impétigo no buloso originado por staphylococcus aureus del causado por s.pyogenes. (Morayo, Peuchot,Giachettu,Moreno, Cancelara,Corazza y Calvan, 2014,p-6-7 )

Ilustración 15. Impétigo



Fuente obtenido de: Mersch 2017

### **Tratamiento**

Según Morales (2012, pp. 69-73), el tratamiento de primera elección contra streptococcus pyogenes es la penicilina, en pacientes que presentan alergia a este medicamento se recomienda utilizar algún macrolido como por ejemplo la eritromicina; sin embargo, presentan resistencia de un 5.7%. Otras alternativas son las cefalosporinas, en estas se encuentra la clindamicina, En infecciones mixtas está como alternativa a vancomicina y la oxaciclina. También se utilizan

macrolidos como la azitromicina y claritromicina. sin embargo, estos no son tan eficaces como la eritromicina,

En 1974, se aisló en Japón las primeras cepas resistentes a macrolidos, países como España y Finlandia alcanzan porcentajes de resistencia mayores al 30%. Se cree que la bacteria crea un mecanismo de defensa sobre macrolidos por dos vías: por modificación del sitio blanco y eflujo activo. (Valencia, 2009, p.35)

- **Modificación del sitio blanco:** se produce por la adquisición de un gen que codifica la enzima, produciendo un cambio conformacional en el ribosoma, que, a su vez, disminuye la afinidad a macrolidos, lincosamidas y estreptograminas que son fármacos de diferentes familias, pero actúan en el mismo sitio de acción. (Valencia, 2009, p.36)
- **Eflujo activo:** se produce por la presencia de un gen que codifica la síntesis de una bomba que media el eflujo en forma activa dependiente de energía, por lo que es un sistema de eliminación a los macrolidos y es la razón de la resistencia. (Valencia, 2009, p.36)

Cabe recalcar que la faringitis debe utilizar una terapia más rápida para tratar la sintomatología y evitar que se agrave el cuadro como una fiebre reumática, pero no se han encontrado evidencia de que disminuya la evolución de la glomerulonefritis posts treptocococica. (Morales, 2012, pp.69-73)

El tratamiento para faringitis estreptocócica por antibiótico dosis y duración es el siguiente:

Tabla 5. Tratamientos eficaces para faringitis estreptocócica

Antibiótico	Dosis	Duración
Penicilina	Niños: 250 mg cada 8-12 horas Adultos 250 mg cada 6-8 horas o 500 mg c/12H	10 días

Eritromicina	40 mg/kg/día cada 6-12 h	10 días
Azitromicina	5-15 mg/kg/día cada 24 horas	5 días
Claritromicina	15 mg/kg/día cada 12 horas	10 días
Clindamicina	10-20 mg/kg/día cada 6-8 horas	10 días
Cefadroxilo	30 mg/kg/día cada 12 H	10 días

Fuente: valencia, 2009, p. 70, creación propia.

La amoxicilina puede ser utilizada en lugar de la penicilina en niños pequeños debido a su mejor tolerancia, no presenta ventajas microbiológicas,

### **Sistema tegumentario**

El tejido tegumentario está formado por la piel, el cabello, las glándulas sudoríparas y sebáceas, las uñas y los receptores sensitivos. Este sistema ayuda a mantener a temperatura corporal, protege el organismo y proporciona información sensitiva corporal. De todos los órganos corporales, este está expuesto a infecciones, enfermedades, lesiones. (Tortura y Derrickson, 2011, pp.153-177)

#### **Estructura de la piel**

También conocida como la membrana cutánea, cubre la superficie externa del cuerpo y es el órgano más grande. Su espesor puede variar 0.5 mm en los párpados hasta 4 mm en el talón; sin embargo, el espesor oscila de 1 a 2 mm. (Tortura y Derrickson, 2011, pp.153-177)

La piel está constituida por una epidermis superficial delgada y una dermis profunda más gruesa; debajo de esta se encuentra el tejido subcutáneo La epidermis es avascular mientras la dermis es vascularizada. El tejido subcutáneo también llamado hipodermis está constituido por tejido areolar y adiposo; aquí se almacena grasa y contiene vasos sanguíneos grande cuya función es irrigar la piel. (Tortura y Derrickson, 2011, pp.153-177)

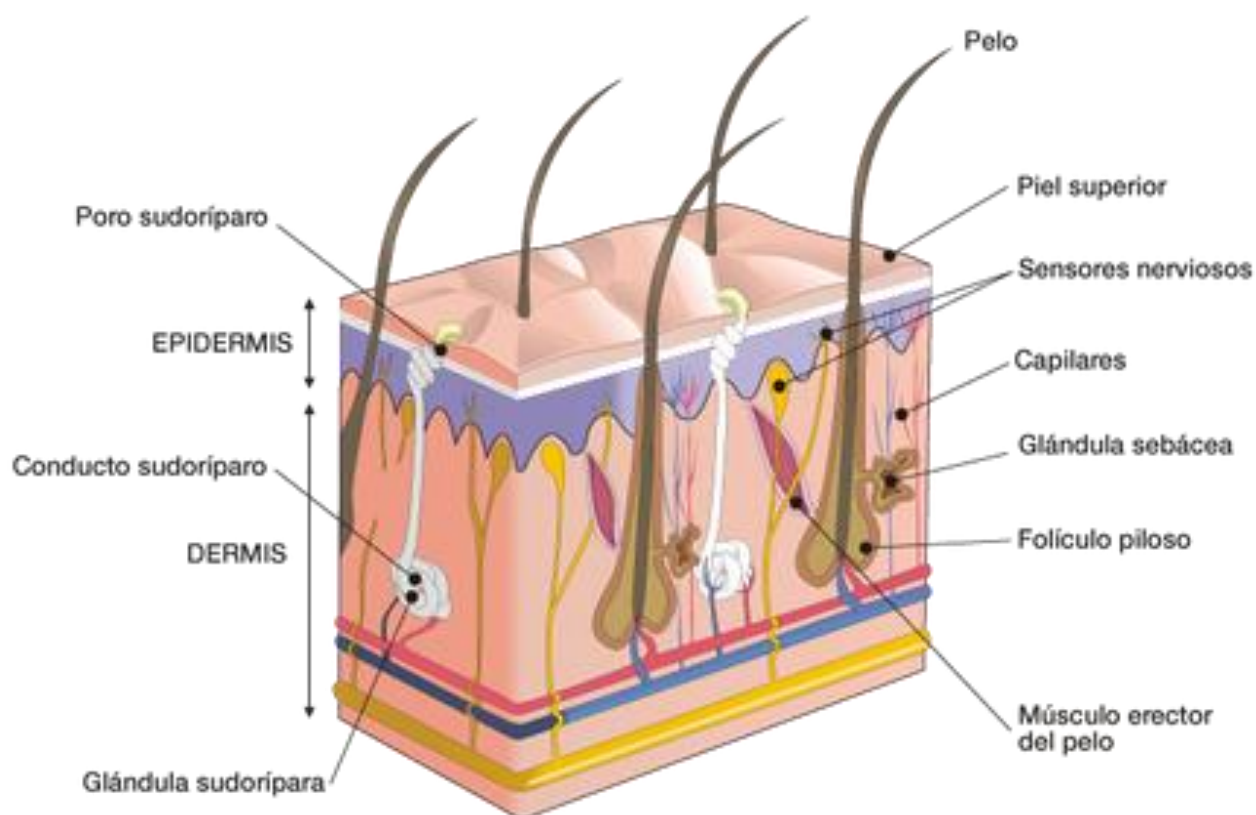
## Epidermis

Está compuesta por un epitelio estratificado queratinizado; se pueden encontrar cuatro tipos de células entre ellas: melanocitos, células de Langerhans y células de Merkel. El autor establece que alrededor de un 90% de las células son queratinizadas y producen queratina. La queratina es una proteína fibrosa y resistente al calor, microorganismos y compuestos químicos. (Tortura y Derrickson, 2011, pp.153-177)

## Dermis

Es la segunda porción de la piel y la más profunda, formada por tejido conectivo denso irregular con colágeno y fibras elásticas. Debido a las fibras elásticas, esta zona posee resistencia a la tensión, también puede estirarse y recuperarse con facilidad. (Tortura y Derrickson, 2011, pp.153-177)

Ilustración 16. Estructura de la piel.



Fuente: Tortura y Derrickson, 2011

### **Flora bacteriana de la piel**

Presenta una flora microbiana residente y otra transitoria, en la residente existen microorganismos no patógenos como el staphylococcus epidermis, micrococcos, propionibacterium, entre otras. La flora transitoria posee microorganismos patógenos, entre ellos staphylococcus aureus y streptococcus pyogenes. (Morayo, Peuchut, Moreno, Cuarelli, Corrazza, Calvan, 2014, pp.3-4)

### **Excreción y absorción de sustancias**

La piel cumple función excretora de sustancias del organismo como también de absorción. A pesar de la impermeabilidad de la piel, se evaporan alrededor de 400 Ml de agua al día. Además, el sudor funciona eliminando pequeñas cantidades desales, dióxido de carbono y moléculas orgánicas procedentes de la degradación de aminoácidos, proteínas y urea. (Tortura y Derrickson, 2011, pp.153-177)

En el caso de absorción de sustancias hidrosolubles a través de la piel es mínima y sustancias liposolubles como las vitaminas A, D, E, K, algunos fármacos y gases también se pueden absorber. Sustancias tóxicas pueden penetrar por la piel como la cetona, tetracloruro de carbono, metales pesados, entre otros. Por ejemplo, los córticos- esteroides como la cortisona son de carácter liposoluble y por ello se desplaza con facilidad por la dermis y de esta forma ejercer su efecto terapéutico. (Tortura y Derrickson, 2011, pp.153-177)

### **Lesiones de la piel**

Conociendo las diferentes lesiones en la piel, se puede facilitar un buen diagnóstico y así mismo un tratamiento exitoso; conociendo los tipos de lesiones, se puede simplificar el estudio de la piel. Entre las principales lesiones se encuentra: (Tortura y Derrickson, 2011, pp.153-177)

#### **Mácula**

De característica plana, la piel tiende a cambiar su color, posee un diámetro alrededor de 1 cm. El cambio de color puede ser debido a un exceso de pigmentación, eritema o hemorragia.

#### **Pápula**

Elevación pequeña de la piel, son pequeñas miden menos de 1 cm. Se puede presentar debido a procesos inflamatorios y son el resultado de una acumulación de células en el aérea.

**Nódulo**

Son de un tamaño parecido a las pápulas; sin embargo, la diferencia radica en que son más profundas, se deben a ulceraciones, procesos neo plasmáticos, acumulación de minerales o displasia.

**Roncha**

No posee límites definidos; puede presentar una coloración rosa. Es debido a picaduras de insectos, reacciones adversas a medicamentos o reacciones alérgicas.

**Presentación farmacéutica**

En este apartado se discutirá acerca de los conceptos y relaciones con la forma farmacéutica que se realizará en este trabajo de investigación. Además, se expondrá las principales características de la crema y la definición de qué es cada componente dentro de la formulación, con el fin de que se entienda todo el procedimiento que se desea realizar.

**Forma farmacéutica**

Una fórmula farmacéutica se puede definir como una disposición individualizada a que se adaptan las sustancias medicinales; es decir, principios activos y excipientes para constituir un medicamento. Además, a dicha forma farmacéutica se le establece una dosificación, eficacia terapéutica y estabilidad en el tiempo. Existen formas farmacéuticas de liberación convencional o liberación módifica. (Ferrandis, 2013, s.p)

Entre las principales formas farmacéuticas se encuentran:

- Cápsulas
- Colirios
- Cremas
- Elixires
- Emulsiones
- Espíritus
- Geles
- Liposomas

- Óvulo
- Pastas
- Soluciones
- Supositorios
- Suspensiones
- Ungüentos
- Tabletas con recubierta

Ilustración 17. Formas farmacéuticas sólidas de uso tópico



Fuente: Coronel, 2017

### **Formulación farmacéutica**

En la actualidad, las industrias farmacéuticas han basado sus investigaciones en cómo optimizar los procesos para de esta manera reducir significativamente los tiempos de fabricación

y todos los costos que conlleva la fabricación de las diferentes formas farmacéuticas y que no afecte su calidad. (Pinillos J y Lopera C, 2009, p.1)

Al diseñar una fórmula farmacéutica debe tomarse en cuenta la velocidad con la que se desea se libere el principio activo, esto gracias a la acción de los excipientes que le voy a agregar a mi formulación y, a su vez, controlar propiedades físicas determinantes de la forma farmacéutica. (Pinillos J y Lopera C, 2009, p.1)

Por lo tanto, las formulaciones farmacéuticas son casi todas invariables, mezclas de excipientes y principio activo. Es importante valorar los porcentajes de los materiales que llevará la formulación y el total de peso de la formulación. (Pinillos J y Lopera C, 2009, p.1)

### **Componentes de una formulación farmacéutica**

Entre los principales componentes de una formulación están las materias activas o llamados también principios activos que son las que adquieren la función en la fórmula farmacéutica o los auxiliares pueden desarrollar diferentes funciones dentro de mi formulación, entre los principales auxiliares están aditivos, coadyuvantes y excipientes; estos se encargan en contribuir a la eficacia del principio activo y, por ende, facilitar la preparación y aplicación del producto. Adicionalmente, mejor la presentación y conservación de la forma farmacéutica. (Schorsch y Aubry, 2004, p.13)

#### ***excipientes.***

En la formulación se debe agregar auxiliares o excipientes con el fin de permitirle al principio activo ejercer su acción terapéutica por lo que un producto que solo tiene excipientes no será útil. Existen en el mercado varios tipos de principios activos; por ejemplo: (Schorsch y Aubry, 2004, p.15)

#### ***activadores o moduladores.***

Dentro de la formulación son utilizados para potenciar el efecto de los principios activos o por el contrario controlar su liberación. Además, impedir que se forme una reacción a la hora de aplicarse el producto. (Schorsch y Aubry, 2004, pp.15-16)

### *Aditivos sensoriales.*

Encargado de otorgarle un olor, un sabor o una sensación táctil particular a la forma farmacéutica. En farmacia son llamados aditivos, dentro de esta clase encontramos aromas, edulcorantes, perfumes y siliconas. (Schorsch y Aubry, 2004, pp.15-16)

### *Diluyentes.*

Desempeñan un rol importante en la eficacia de la fórmula. Son importantes ya que estos aumentan el volumen o el peso. También facilitan la cohesión de los polvos disminuyendo la viscosidad en las formas farmacéuticas líquidas. (Schorsch y Aubry, 2004, pp.15-16)

### *Estabilizadores.*

Evitan la desgranulación de la calidad del producto en el transcurso del tiempo; por ejemplo, fenómenos físicos como la sedimentación o floculación y fenómenos químicos como oxidación y foto degradación. Además, para eliminar fenómenos biológicos como el ataque microbiano. (Schorsch y Aubry, 2004, pp.15-16)

### *principio activo.*

Son los ingredientes más importantes en la formulación ya que el principio activo es el encargado de realizar la función principal para la que fue creada la forma farmacéutica. Existen productos farmacéuticos que pueden contener una o más materias activas por lo que el medicamento puede tener múltiples funciones. (Schorsch y Aubry, 2004, p.13)

## **Medicamentos de uso tópico**

Las formas farmacéuticas de uso tópico son formas muy heterogéneas, suelen ser más viscosas que el agua y tener una consistencia semisólida. Están destinadas para ser aplicadas sobre la piel y provocar una acción farmacológica deseada. Poseen una base grasosa y excipiente que dispersan el o los principios activos. Adicionalmente contienen antioxidantes, antimicrobianos, estabilizantes y emulgentes. (López, Ortonobes y Garcia,2015, pp.183-186)

### **Crema.**

Las cremas contienen una mezcla de agua y sustancias grasas, estas juntas realizan una mezcla emulsionante que resulta ser muy estable. En su formulación se pueden usar distintos excipientes que son los principales causantes de la clasificación, entre ellas están las cremas lipófilas e hidrófilas. (López, Ortonobes y Garcia,2015, pp.183-186)

***lipófilas.***

Son llamadas cremas aceite en agua, son excelentes cuando se requiere formular fármacos liposolubles. Estas cremas cuando se aplican sobre la piel, el agua que contienen se evapora, por lo tanto, se logra percibir una sensación refrescante mientras que la parte grasa es absorbida. Son recomendables cuando el paciente tiene piel seca o dermatitis crónica ya que por su alto grado de grasa no se quitan fácilmente con agua. (López, Ortonobes y Garcia,2015, pp.183-186)

***hidrófilas.***

Son las más adecuadas para formular fármacos hidrosolubles, gracias a esto suelen presentar un efecto evanescente. Después de ser aplicados pierden rápidamente el agua que contienen y la otra parte que contiene la grasa es absorbida y se mezclan con exudados cutáneos. Estas formulaciones son ideales para proteger la piel de la suciedad u otros agentes externos. Además, no manchan la piel y suelen lavarse con facilidad. (López, Ortonobes y Garcia,2015, pp.183-186)

## CAPÍTULO III.MARCO METODOLÓGICO

En el capítulo presentado a continuación se va a exhibir la forma en que se va a desarrollar todo el trabajo de investigación. Además, se va a describir tanto el enfoque como el diseño del estudio; se van a detallar todos los instrumentos que se van a utilizar experimentalmente y todos los procedimientos que se van a llevar a cabo para obtener el aceite esencial del eucalipto. Adicionalmente se adjuntará un cronograma donde se mostrará, paso a paso, cómo se realizará la investigación, desde el primer capítulo hasta las conclusiones.

### **Enfoque**

Esta investigación tiene un enfoque cuantitativo, ya que como describen los autores Fernández, Hernández y Baptista. (2014, p.4)

El enfoque cuantitativo es secuencial y probatorio. El orden es riguroso, aunque desde luego, podemos redefinir alguna fase. Parte de una idea que va acotándose y, una vez delimitada, se derivan objetivos y preguntas de investigación, se revisa la literatura y se construye un marco o una perspectiva teórica. De las preguntas se establecen hipótesis y determinan variables; se traza un plan para probarlas” (Fernández, Hernández y Baptista, 2014, p.4).

Ya que el propósito de esta investigación es comprobar de forma experimental Evaluando de forma in- vitro el resultado antimicrobiano que se obtiene al colocar el extracto del aceite esencial del eucalipto sobre *streptococcus pyogenes*.

### **Diseño**

Según los autores Fernández, Hernández y Baptista. (2014, p.129) establecen que el diseño de esta investigación es experimental, ya que se tendrá un plan establecido para recaudar

la información necesaria para solucionar la hipótesis y planteamiento del problema descrito anteriormente. Es decir, los diseños experimentales se utilizan cuando el investigador pretende establecer el posible efecto de una causa que se manipula.

Se va a comprobar el efecto antibiótico del aceite de eucalipto, se obtendrá el aceite experimentalmente en el laboratorio y se procederá a realizar una crema con el aceite extraído; con el mismo se probará su eficacia poniéndolo en contacto con el microorganismo en estudio. Por estos procedimientos descritos se considera la investigación cuantitativa un diseño experimental.

### Variables

En la presente investigación, las variables en estudio se derivan de los objetivos específicos planteados.

Tabla 6. Variables de la investigación.

Objetivo	Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Instrumentalización
Extracción del aceite esencial del eucalipto	Aceite esencial	Son sustancias, las cuales suelen ser altamente olorosos y sumamente volátiles, pueden ser bastante grasos	Se obtendrá mediante el método de soxhlet, utilizando varios disolventes. También se realizará con pruebas de identificación de componentes,	Equipo soxhlet. Tubos de ensayo, reactivos específicos para las diferentes pruebas,
Evaluar la pureza del método de extracción	Principio activo	Es la sustancia que se le otorga la actividad terapéutica o	Se realizará mediante el uso de espectroscopia	Espectrofotómetro infrarrojo y espectrofotómetro de gases ligado a masas.

utilizado.		farmacológica	de gases ligado a masas y uso de espectroscopia infrarroja.	
Elaboración de la forma farmacéutica	Crema	Las cremas son formulaciones que contienen una mezcla de agua y sustancias grasas, estas juntas realizan una mezcla emulsionante que resulta ser muy estable	Diseñar y elaborar una crema con propiedades antimicrobianas	Cristalería y reactivos
Comparación de efectividad de la crema con presencia del aceite y otra sin aceite esencial	Actividad antimicrobiana	Son alteraciones en la función de la bacteria produciendo una inhibición del crecimiento o reproducción de la bacteria.	Medir halos de inhibición por medio del cultivo de la bacteria en un agar específico, utilizando el aceite, crema sin aceite y crema con aceite.	Placas Petri, medios de cultivo, incubadora, reglas de medición, cultivo de <i>s.pyogenes</i>
Comparación in-vitro de la crema versus el medicamento de comunidad	Actividad antimicrobiana		Medir halos de inhibición por medio del cultivo de la bacteria en un agar específico,	Placas Petri, medios de cultivo, incubadora, reglas de medición, cultivo de <i>s.pyogenes</i>

más común para tratar <i>s.pyogenes</i>			comparando el resultado con un control positivo	
---	--	--	---	--

Creación: Autor

### **Instrumentos y técnicas de recolección.**

Los instrumentos a utilizar para la extracción del aceite de eucalipto en la Universidad Internacional de las Américas son:

Los instrumentos necesarios para realizar el experimento microbiano serán las placas con el agar y las cepas del microorganismo *s. pyogenes*. Dicha prueba se hará en el laboratorio Microlabs y para conocer concentración del extracto se hará en el centro de investigaciones de productos naturales CIPRONA ubicado en la Universidad de Costa Rica

### **Cristalería requerida.**

- Calentadores
- Soxhlet
- Balones de 250 ml
- Gotero
- Termómetro
- Balanza
- Rotavapor
- Tubos de ensayo
- Pescador
- Pastilla de agitación
- Beakers
- Cuchillo
- Mangueras
- Probeta
- Espátula
- Prensas acanaladas
- Soportes
- Condensador
- Granadilla de tubos de ensayo
- Pipeta

Además, para llevar a cabo la investigación se utilizará una bitácora con el fin de anotar todos los resultados que se obtengan en el laboratorio y poder realizar anotaciones.

Cabe recalcar que la bitácora funciona para tener una guía de trabajo y de esta forma trabajar con mayor orden en el laboratorio, la libreta obtendrá todos los procesos que se van a llevar a cabo para obtener el aceite esencial de eucalipto, así como los porcentajes de rendimiento que se obtengan con los diferentes procesos.

**Reactivos necesarios.**

- Etanol 95%
- Agua destilada
- Sal gruesa
- Tolueno
- Yodo
- Vainillina
- Ácido sulfúrico
- Metanol
- Ácido clorhídrico concentrado
- Magnesio metálico
- Cloroformo
- Ácido acético
- Solución de bromo
- Alcohol cetílico
- Ácido esteárico
- Glicerina
- Metilparabenos
- Propilparabenos
- Aceite mineral
- Trietanolamina

## Método

A continuación se presentarán varios métodos que se utilizarán para la extracción y la obtención del aceite esencial del eucalipto necesario para realizar la investigación.

Para la obtención del aceite esencia de eucalipto, se utilizó el método de extracción. Antes de pesar las hojas de levaron y se dejaron secar con el fin de obtener un extracto más puro.

### Método de soxhlet

- Se pesó aproximadamente 20g de las hojas de eucalipto y se introducen en el soxhlet.
- Se le adicionó 500ml de etanol al balón y se le pone la pastilla de agitación.
- Instaló el equipo completo de soxhlet con las mangueras pegadas al condensador.
- Se calentó el calentador a una temperatura constante de 70-80 °C.
- El equipo se dejó aproximadamente 6 horas el equipo en funcionamiento hasta que el ciclo se destile de cuatro a seis veces y se note que se extrae la mayor cantidad de las plantas.
- Una vez obtenido el extracto se evaporó el solvente en baño maría.

Se utilizó tres disolventes para realizar este método de extracción; entre ellos agua, etanol, éter etílico. Cada procedimiento se realizará por triplicado.

Ilustración 18. Equipo de destilación por método de soxhlet.



Fuente: Autor

Posterior a obtener el destilado se procedió a separar la fase acuosa, esto solamente cuando en la extracción se utilizó agua. Para ello se transfirió el extracto disuelto en agua a un embudo separador y se le agregó 20 mL de éter etílico. Se recolectó la fase orgánica en un Erlenmeyer limpio y seco.

Ilustración 19. Separación de la fase acuosa de la fase orgánica.



Fuente: Autor

Con lo obtenido en el proceso anterior, se procedió a usar el rota vapor para extraer el disolvente y solamente obtener el aceite esencial.

Ilustración 20. Rota vapor (muestra de extracción en agua)



Fuente: Autor

Para extraer el disolvente en las extracciones en que se utilizó alcohol etílico y éter ético, se procedió de igual forma a utilizar el rota vapor, con el fin de evaporar el disolvente. No sobrepasando los 177 °C que es el punto de ebullición del eucaliptol. El alcohol etílico tiene un punto de ebullición de 78.4°C y el éter ético de 34.5°C.

Ilustración 21. Equipo de extracción de disolvente Rota vapor



Fuente: autor

Se calculó el porcentaje de rendimiento de los 3 procesos de destilación con los diferentes disolventes que fueron agua, etanol al 95% y éter etílico, cada uno de ellos por triplicado, mediante la siguiente ecuación.

Ecuación 1, Ecuación para calcular el rendimiento experimental obtenido del método soxhelt.

*Porcentaje de rendimiento de la reacción*

$$= \frac{g \text{ obtenidos al final del proceso}}{g \text{ de las hojas colocadas en el Soxhelt}} \times 100$$

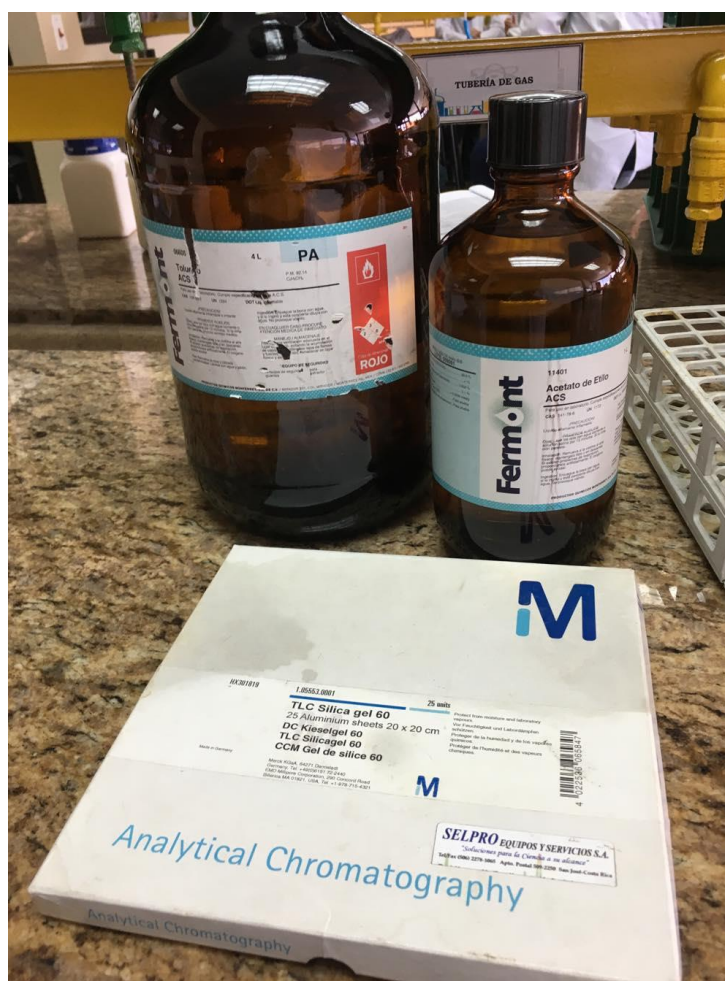
Creación: propia

Para eliminar el exceso de clorofila en el extracto, se procedió a utilizar cromatografía de capa fina, con el fin de purificar el extracto obtenido y eliminar la clorofila obtenida en todos los procesos de extracción.

### Cromatografía de capa fina

Se sometió el extracto a una separación cromatografía en capa fina en la cual primero se verificó cuál era una fase móvil apropiada para el extracto. Se utilizó tolueno y acetato de etilo a una proporción 9:1.

Ilustración 22. Materiales utilizados para realizar la cromatografía de capa fina



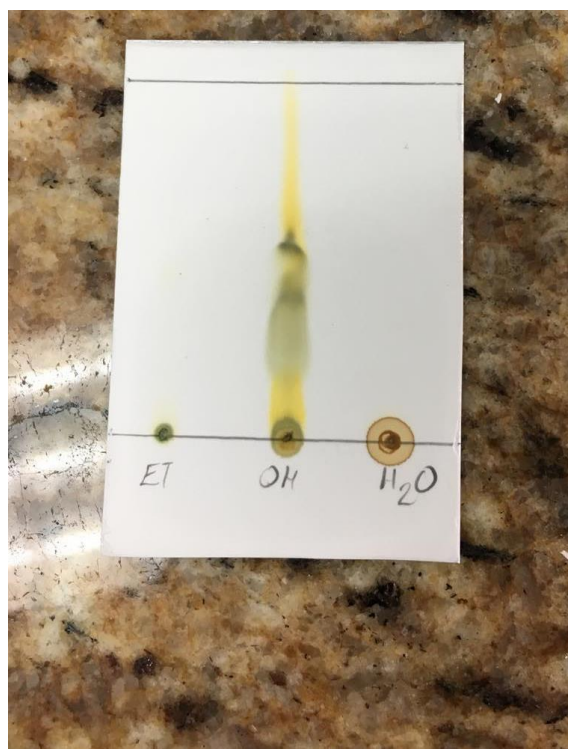
Fuente: autor

Se preparó primeramente la fase móvil para la cual se tomó 9 ml de tolueno y 1 ml de acetato de etilo, esta disolución se colocó en un Beaker de 100 ml y se tapó con un vidrio de reloj.

Se cortó con la ayuda de una tijera pequeños cuadros de 4cm x 6 cm de TLC silica gel 60 F254, se hizo una línea en el lado superior y una el lado inferior de 0.5 cm y 1 cm respectivamente. Se colocaron tres gotas cada una de ellas de los diferentes extractos obtenidos. Posteriormente se esperó que se secara la gota y se colocó dentro del beaker que contenía la fase móvil y se dejó ahí hasta que dicha fase fuera subiendo.

Se dejó secar la silica y se analizó por medio de la lámpara ultravioleta UV a 254 nm modelo Cole parmer y se observó el resultado obtenido. La molécula de eucaliptol (1.8-cineol) tiende a dar una señal color azul violeta.

Ilustración 23.Placa de silica seca.



Fuente: autor.

Se realizó el mismo procedimiento, pero utilizando placas preparativas de gel de sílice, en el cual se hizo una línea superior e inferior de 2 cm cada una. Con la ayuda de una micro pipeta se

colocaron líneas de los extractos acuosos, etanólico y del éter etílico; se repasaron las líneas 3 veces para obtener líneas más exactas de la molécula 1.8- cineol (eucaliptol).

Ilustración 24 Placa preparativa de sílica gel.



Fuente: autor

Ilustración 25. Placa preparativa con la muestra del extracto de éter etílico



Fuente: autor.

Se introdujo la placa preparativa en un recipiente rectangular de vidrio grueso y se tapa con papel aluminio, los gases de la fase móvil empiezan a subir por la placa. Se retira la placa hasta que la fase móvil haya llegado a la línea superior, se deja secar y se analiza en la lámpara UV 254 nm. Se nota la presencia de líneas color azul violeta que indican presencia de la molécula en estudio.

Con un lápiz de grafito se señaló las líneas que presentan una coloración azul y se raspó la placa. El raspado se colocó en viales secos. Cada vial se disuelve con la fase móvil que se preparó anteriormente (Tolueno y acetato de etilo en una proporción 9:1); aproximadamente 10 ml. Se filtró con el fin de que el sílice quedara atrapado en el filtro. Se llevó a baño maría el extracto obtenido anteriormente, obteniendo gotas de la molécula como resultado del proceso.

Ilustración 26. Placa de sílice preparativa del extracto de éter etílico raspada.



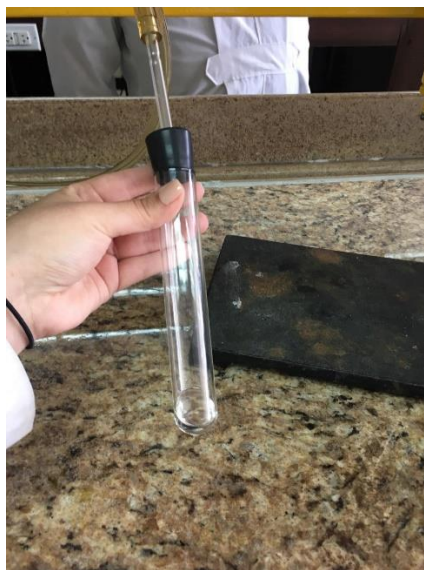
Fuente: autor

Ilustración 27. Raspado disuelto en 10 ml de la fase móvil



Fuente: propia

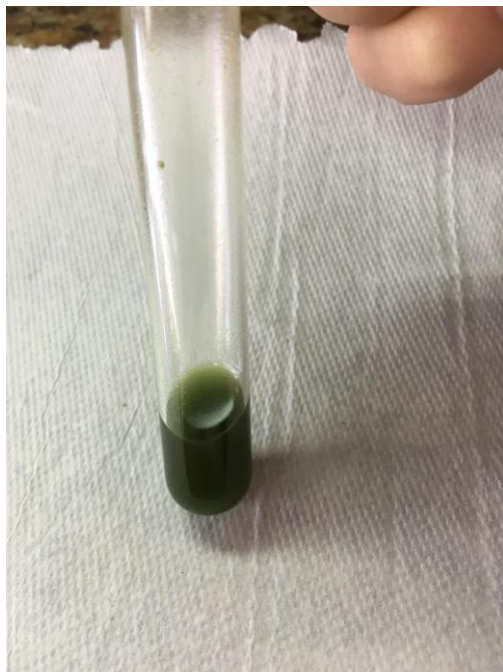
Ilustración 28. Extracto colocado en baño maría



Fuente: autor

Para poder realizar las pruebas con el extracto de éter etílico se tuvo que reconstituir nuevamente con éter etílico, el cual se utilizó 5 ml del disolvente en un tubo de ensayo limpio y seco.

Ilustración 29. Reconstitución del extracto obtenido a partir de éter etílico

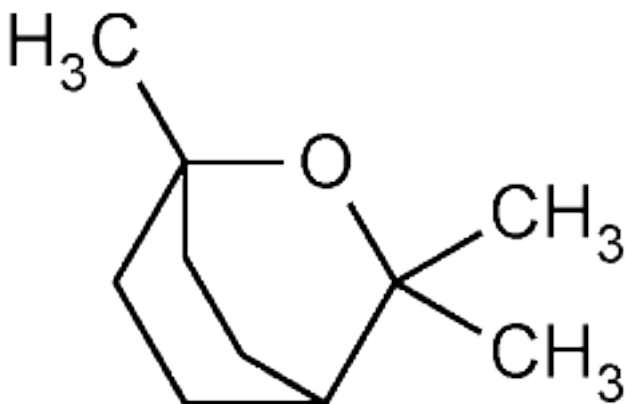


Fuente: autor

### **Pruebas de identificación de componentes del aceite esencial de eucalipto.**

El principal componente del aceite esencial de eucalipto es el eucaliptol; en su estructura posee algunos grupos funcionales importantes como se puede observar en la ilustración.

Ilustración 30. Eucaliptol (1.8-cineol)



Fuente: USP38(2010-2015)

### **Análisis cualitativo por espectroscopia IR del aceite de eucalipto**

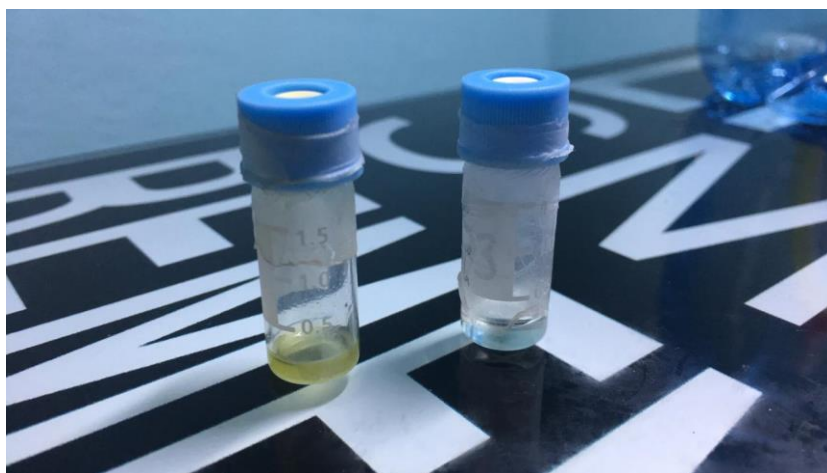
Para realizar dicho análisis, se realizó en la Universidad de Iberoamérica UNIBE, con el espectro infrarrojo modelo Perkin Elmer Spectrum FT-IR

Para ello se utilizó el siguiente procedimiento durante el uso de equipo:

1. Se dejó calentar la lámpara y se activó el software desde la computadora.
2. Se limpió el porta muestras con un poco de acetona contenida en una piseta, se aplicó con la ayuda de una toalla suave para no rayar el lente.
3. En la computadora se empezó a correr el blanco, posteriormente esta indica que se debe agregar la muestra.
4. Se aplicó una pequeña cantidad de la muestra para cubrir toda la placa sin que esta no se derrame. Se debió asegurar que no exista presencia de burbujas de aire o precipitado algún componente del aceite esencial que puedan afectar el resultado.
5. Finalmente se realizó el escaneo y seguidamente se obtiene el espectro para la muestra elegida.

El infrarrojo se hizo con la muestra del aceite esencial purificado acuoso y el aceite obtenido con el método soxhlet usando éter etílico como disolvente.

Ilustración 31. Muestras del aceite de eucalipto obtenido, utilizando disolvente agua y utilizando éter etílico.



Fuente: Autor

Ilustración 32. Espectrofotómetro infrarrojo IR usado para la identificación de los aceites esenciales de eucalipto obtenidos con disolvente acuoso y éter etílico.



Fuente: Autor

## **Identificación de componentes por coloración**

### **Identificación de saponinas.**

Se agitó en un tubo de ensayo tapado, alrededor de 4 ml de filtrado acuoso, vigorosamente durante un minuto. La formación de una espuma abundante y estable es prueba presuntiva de la presencia de saponinas en la muestra.

### **Identificación de flavonoides (prueba de Salkowski)**

- Se colocó en tubo, 2 ml del extracto preparado, algunos fragmentos de Mg y agregar por las paredes del tubo, unas gotas de HCl diluido.
- Se observó la coloración, que varía para las diferentes estructuras.
- La aparición de colores naranja, rosado, rojo o violeta es prueba positiva para la existencia de flavonoides en la muestra.

### **Identificación de terpenos y esteroides (Prueba de Lieberam-Burchard)**

- En un tubo de ensayo limpio y completamente seco, se colocó 1ml del extracto etanolito.
- Añadir 1 ml de anhídrido acético.
- Por la pared del tubo y con mucha precaución, dejar resbalar 1-2 gotas de ácido sulfúrico concentrado.
- La formación de colores azules, violetas, rojos o verdes es prueba positiva de que la muestra contiene Esteroides y/o Triterpenoides.

### **Identificación de fenoles (Prueba de Cloruro de hierro (III) ( $\text{FeCl}_3$ ) /salina)**

Se disolvió el extracto con una mezcla de agua y etanol, se le agregan 3 gotas de solución de cloruro de hierro (III) diluido (se prepara colocando 3g de cloruro de hierro III en un balón de 100 mL. La formación de una coloración roja, azul, verde, o púrpura indica la presencia de fenoles.

### **Identificación de la concentración y componentes del aceite de eucalipto**

Para ello se utilizó cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas; el servicio fue contratado al Centro de Investigaciones de Productos Naturales CIPRONA para realizar este estudio. El día 20 de febrero del 2018 se les entregó aproximadamente 0.25 ml del aceite esencial de eucalipto en un vial transparente, con el fin de obtener los compuestos presentes en el aceite y su concentración.

Ilustración 33. Muestra del aceite esencial obtenida con el disolvente éter etílico que se utilizó para la cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas.



Fuente: Autor

### **Prueba microbiana**

Se evaluó la actividad antimicrobiana del extracto etílico que es el que se obtiene más puro de la crema realizada a base del extracto, se utilizó Clindamicina, el antibiótico de elección y una crema realizada en el laboratorio sin el extracto de eucalipto. Se utilizó un medio de un cultivo llamado agar sangre.

La cepa fue proporcionada por la Universidad de Costa Rica, por la facultad de bacteriología médica en el mes de enero por el Dr Carlos Chacón Díaz y fue llevada al laboratorio Microlabb ubicado en Guadalupe donde se procedió a realizar la prueba antimicrobiana. Todos los procedimientos que se describen a continuación fueron supervisados y orientados por el microbiólogo el Dr Roldán Ajun Chaverri, dicho laboratorio brindó los materiales y el equipo utilizado.

- En una cámara de flujo laminar se prepararon los cultivos que contienen las cepas de *S. pyogenes*, en una placa Petri se coloca una muestra de sangre, aproximadamente 10 ml y se le añade agar enriquecedor también llamado agar estándar, se revuelven dentro de la placa Petri y se deja reposar pocos segundos con la luz ultravioleta para eliminar cualquier contaminación.
- Con ayuda de unas puntas estériles se realizan cuatro orificios pequeños en el agar separados entre sí. La profundidad de dichos hoyos debe ser igual para ambos.
- En un medio de cultivo con ayuda de un aplicador se raya con la cepa del microorganismo por todo el medio de cultivo, tratando quede lo más uniforme posible. Se realizaron tres pasadas con el aplicador para obtener un crecimiento en toda la placa.
- Con una micro pipeta se toma una gota del aceite esencial y se coloca dentro del cultivo, se realizó lo mismo con la clindamicina, la crema a base de eucalipto y la crema sin eucalipto.
- El cultivo se almacenó en una especie de cámara a una temperatura de 35-37 °C durante 24 horas para comprobar la sensibilidad o no del aceite de eucalipto.
- Transcurrido las 24 horas se sacó la placa y se evaluó la formación de halos de inhibición de la actividad antimicrobiana de las muestras colocadas en la placa.

## **Elaboración de la forma farmacéutica**

### **Elaboración de la crema**

- Dispensó cada uno de los ingredientes de la fase I (acuosa) y de la fase II (oleosa).
- Se fundieron los ingredientes de la fase I ácido esteárico y el alcohol cetílico a una temperatura de 70°C en un beaker.
- Se adicionó el aceite mineral para disolver el propilparabeno y continuar calentando hasta una temperatura de 75°C.
- Se mezcló por 35 minutos.
- Se calentó el agua destilada, la glicerina y la trietanolamina a 80°C y se disolvió el metilparabeno manteniendo la temperatura a 80°C. Se mezcló por 30 minutos.

- Se añadió la fase oleosa a la fase acuosa con agitación constante, para formar el núcleo de la emulsión. Se mezcló por 30 minutos.
- Se disminuyó la temperatura entre 40 y 45°C; y se adicionó el aceite esencial con agitación.
- Se agregó color si se desea de acuerdo con el procedimiento del color.
- Se trasvasó la crema al recipiente antes de que se enfríe.

## **CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y ANÁLISIS**

Los resultados obtenidos y toda la información que se proporcionará en este capítulo son los obtenidos para cada variable de la investigación, planteadas en los objetivos específicos ya establecidos.

### **Variable 1. Extracción de aceite esencial a partir de las hojas de eucalipto con el método de soxhelt.**

Antes de usar las hojas de eucalipto, estas se lavaron y se dejaron secar por un día, se eliminaron hojas secas, tallos y raíces. Las hojas de eucalipto provienen del vivero Procesa, ubicado en la Garita, Alajuela, Costa Rica. Se constató que el material fue recién cortado para obtener material vegetal joven. El material fue colocado en una bolsa transparente y se procedió a lavar cada hoja con agua y dejar un día para que se secaran; además, siempre estuvieron en refrigeración para no perder cantidades elevadas de materia vegetal.

Se realizó la extracción utilizando método soxhlet, ya que la autora Morales (2012), realiza la extracción del aceite esencial de eucalipto utilizando métodos como: arrastre por vapor, método soxhlet y maceración; la autora concluye en su investigación que obtuvo una mayor cantidad de aceite esencial por medio de la extracción por el método soxhlet.

Las extracciones fueron hechas por triplicado utilizando tres disolventes, uno de ellos con características polares, uno no polar y el otro fuertemente no polar; esto debido a que el aceite esencial del eucalipto no es soluble en agua; sin embargo, sí es soluble en etanol, cloroformo y éter. Es importante mencionar que se podría experimentar la extracción del eucalipto por otros métodos de extracción, pero por un factor limitante como el tiempo no se pudo realizar.

Se colocaron aproximadamente 20 g de la planta en el aparato soxhelt para cada extracción realizada en el laboratorio. Se realizó la primera extracción por triplicado utilizando disolvente agua, la segunda por triplicado utilizando etanol y finalmente utilizando éter; esto debido a que el laboratorio no cuenta con gran cantidad de equipos de extracción.

Se dejaron los aparatos en destilación hasta obtener de 3 a 4 vueltas, durante este proceso se logró percibir un fuerte olor a eucalipto desde que el método daba la primera vuelta. Para la extracción, utilizando disolvente agua se logró apreciar que el extracto tenía una tonalidad más café y un fuerte olor a eucalipto, mientras para etanol fue un verde oscuro y para éter un verde claro. Todos los extractos obtenidos tenían un fuerte olor característico del eucalipto.

Figura 1. Extractos obtenidos con los diferentes disolventes utilizados.



Fuente: autor

Cabe recalcar que todos los extractos fueron guardados en mueble cerrado, donde no podía afectar la luz, el calor y humedad. Guardados con papel Parafina para mantenerlos libres de patógenos.

Al extracto acuoso se le realizó la extracción de la fase acuosa, en dicho proceso se logró notar que este hacía una especie de emulsión entre la fase acuosa y la fase oleosa, por lo que se dejó alrededor de 10- 15 min para que se lograra separa mejor las dos fases y de esta forma no perder principio activo de la planta. Es importante anotar que en las extracciones se utilizaron volúmenes pequeños de éter etílico para de esta forma obtener los aceites más puros. Se realizaron 3 extracciones consecutivas. Como se muestra en la Figura 1.

Ilustración 34. Separación de las fases para el extracto acuoso.



Fuente: autor.

Una vez obtenida la fase orgánica y eliminada el agua del extracto, se procedió a extraer el disolvente, para ello se utilizó el rota-vapor, este permite la evaporación rápida del solvente. En el rota vapor se coloca la temperatura de ebullición del disolvente y el aparato mantiene esa temperatura constante, situación que en un baño maría es difícil controlar. Además, este permite por ser un matraz redondo que toda la disolución esté en contacto con el baño maría y se pueda obtener un extracto más puro y a un menor tiempo.

Se realizó lo mismo con los otros extractos de etanol y éter etílico, estos no debieron pasar por la extracción de la fase orgánica, ya que el disolvente se puede extraer de una vez, utilizando el rota vapor. Las temperaturas utilizadas fueron para la muestra acuosa 80 °C, para la muestra etanolica 80 °C y para la de éter etílico 40 °C, este no debía pasar los 177 °C ya que es la temperatura con la que ebulle el eucaliptol.

A la hora de utilizar el rota vapor se pudo notar que al quedar ya el material oleoso en el matraz se debía extraer rápidamente ya que se solidifica rápidamente, este inconveniente fue más notoria en el extracto de éter etílico, ya que al evaporarse este disolvente no dejaba muestra de

agua en el aceite, además contenía grasas, ceras y clorofila por el método de extracción realizado. Esto mismo sucedió en el extracto de etanol, pero no tan marcado como el anterior.

Tabla 7. Gramos de material vegetal y gramos del extracto obtenido después de evaporar el solvente.

Disolvente utilizado	(g) utilizados de materia vegetal	(g) obtenidos al final del proceso	(ml) obtenidos al final del proceso	Color del extracto obtenido Experimental
Agua	21.12 g	2.81 g	0.3ml	Café claro
	20.62 g	2.99 g	0.5 ml	Café claro
	24.41 g	2.71 g	0.3 ml	Café claro
Etanol	22.37 g	6.15 g	5.5 ml	Verde oscuro
	20.79 g	5.75 g	4.3 ml	Verde oscuro
	19.35 g	5.12 g	3.9 ml	Verde oscuro
Éter etílico	22.94 g	1.24 g	se obtuvo una especie de pasta color verde (*)	Verde claro
	22.37 g	1.10 g		Verde claro
	19.63 g	0.90g		Verde claro

Fuente: autor

(\*) El extracto obtenido a partir del disolvente éter etílico, no fue líquido, producto de que el solvente se evapora a temperaturas muy bajas, eliminando toda el agua que contenía el extracto; siendo más bien pastoso.

En la tabla 7 se logra evaluar que el extracto, utilizando etanol como disolvente, se obtiene una mayor cantidad de aceite esencial, esto se explica como dicen los autores Penredo, Gracia y López (2009) que en el método de extracción, utilizando aparato de soxhelt, permite un contacto directo del solvente con la materia vegetal, este hecho produce que se arrastren no solo los aceites esenciales, sino también grasas, ceras y clorofila como se obtuvo en la extracción realizada; por lo que se puede decir que ese aceite está contaminado con otras sustancias.

Tabla 8. Porcentaje de rendimiento obtenido experimentalmente con los diferentes disolventes (extracto aun con clorofila)

Disolvente	% de rendimiento de la reacción obtenido experimentalmente
Agua	13.3%
	14.5%
	11.1%
Etanol	27.5%
	27.7%
	26.5%
Éter etílico	5.4%
	4.9%
	4.6%

Fuente: autor

Según los autores Moreno, López y Siche (2010, p. 153) los valores normales obtenidos teóricos de la extracción del aceite de eucalipto puede cambiar dependiendo si es hoja seca o si es hoja joven; tal como se muestra en la Figura 2:

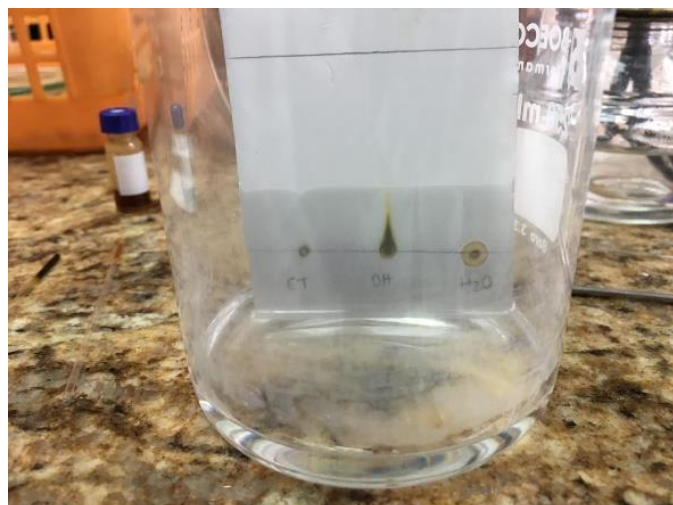
Figura 2. ml teóricos obtenidos de la extracción del aceite esencial del eucalipto.

Fuente	Rendimientos promedios (ml de aceite por 100g de hojas)			
	Hojas frescas	Hojas secas	Tallos	No determinado
Frerichs y Zornig (1950)	0.92	3	--	--
Calderón <i>et al.</i> (1974)	--	--	--	1.61 – 2.19
Llaza (1981)	--	1.05	--	--
Chirinos y Ponciano (1994)	0.75	1.98	0.20	--
Sánchez (2006)	--	--	--	0.9
Este trabajo	--	2.11	--	--

Fuente: Moreno, López y Siche (2010, p. 153)

Como los extractos contenían gran cantidad de clorofila, se procedió a purificarlos por medio de la cromatografía de capa fina; para ello, se inició el proceso, analizando cuándo podía ser una buena fase móvil. Se preparó con la propuesta por los autores Adames, Mendoza y Ospina quienes utilizaron tolueno y acetato de etilo a una proporción de 9:1, al realizarlo se logró apreciar que sí funcionaba con todos los extractos que se tenían. Se utilizó una columna de sílice preparativa en la cual, con ayuda de una micro pipeta, se hacían líneas (3 repeticiones). Es importante comentar que no se puede salir de la línea ya que se puede contaminar la fase móvil y con ello las otras columnas de sílice empleadas en el mismo recipiente de vidrio.

Ilustración 35. Procedimiento de la cromatografía de capa fina.



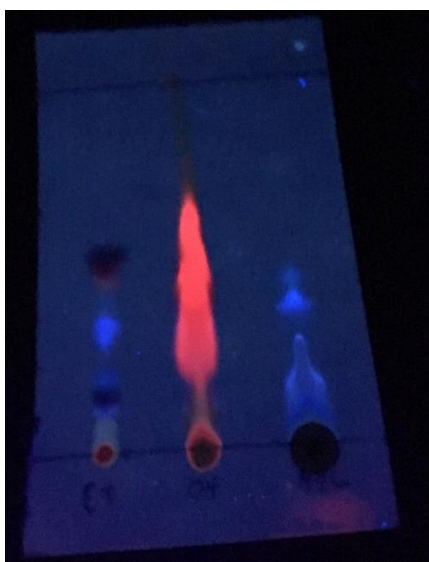
Fuente: autor

Ilustración 36. Proceso donde la fase móvil iba subiendo.



Fuente: autor

Ilustración 37. Resultado obtenido para los extractos acuoso, etanolito y éter etílico con la cromatografía de capa fina



Fuente: autor

Figura 3. Cromatografía de capa fina extracto (acuoso, etílico y éter)



Fuente: autor

En la Figura 3 se puede observar las líneas azules que se forman en los diferentes compuestos, estas líneas son señales del compuesto eucaliptol (1.8- cineol), el cual es el que realiza el efecto terapéutico deseado. El extracto acuoso muestra presencia de otros compuestos ya que se puede observar líneas diferentes a la azul; cabe recalcar que el raspado de esta placa del extracto acuoso se hizo únicamente a donde había presencia de la molecular 1.8-cineol.

A la placa que contenía el extracto etílico, solo se obtuvo señales de color azul indicando la pureza de este extracto, igual que la placa del extracto acuoso solamente se raspó la zona donde había presencia de la molécula en estudio. Al extracto etílico se le logro apreciar una muy pequeña línea del interés, por esta razón no se raspó esta placa ya que se notó que el extracto estaba grandemente contaminado.

Como resultado de este proceso, se aprecia que los extractos no poseen presencia de clorofila, las características físicas de los mismo son similares a las descritas por el autor Acuña en el año 2011, donde el autor mencionado también realiza la extracción del eucalipto y obtiene el mismo resultado logrado.

Tabla 9. Propiedades físicas de los aceites esenciales obtenidos en el laboratorio

<b>Propiedades Físicas</b>	<b>Extracto acuoso</b>	<b>Extracto de éter etílico</b>
<b>Color</b>	Ligeramente amarillo	Transparente
<b>Olor</b>	Característico del eucalipto	Fuerte olor característico del eucalipto
<b>Aspecto</b>	Homogéneo	Homogéneo
<b>Textura</b>	Ligeramente oleosa	Ligeramente oleosa
<b>otros</b>	No hay presenta de partículas extrañas	No hay presencia de partículas extrañas.

Fuente: autor

Ilustración 38. Resultado obtenido después del baño maría.



Fuente: autor.

### **Pruebas de identificación**

Primeramente se realizaron pruebas de identificación por color a los extractos obtenidos en la etapa anterior, para este punto se hicieron cuatro pruebas:

- Identificación de saponinas.

- Identificación de flavonoides (prueba de Salkowski)
- Identificación de terpenos y esteroides (Prueba de Lieberam-Burchard)
- Identificación de fenoles (Prueba de Cloruro de hierro (III) ( $\text{FeCl}_3$ ) /salina)

Tabla 10. Pruebas de identificación

Prueba de identificación	Componente	Coloración para un resultado positivo
Prueba de saponinas	Saponinas	Formación de espuma
Prueba de salkowski	Flavonoides	Naranja, rosado, rojo o violeta
Prueba de Lieberam-Burchard	Terpenos y esteroides	Azules, violetas, rojos o verdes.
Prueba de Cloruro de hierro (III)	Fenoles	Rojo, azul, verde o púrpura

Fuente: autor

Para la prueba de saponina, se realizó con ambos extractos (acuoso y éter etílico), en el cual en un tubo ensayo se agregó el filtrado disuelto en agua en un tubo de ensayo tapado y se agitaron ambos tubos de ensayo; la prueba para ambos dio negativa ya que no hubo presencia de espuma. Esto es debido a que los extracto no tenían presencia de agua en su medio.

La prueba de Salkoski indica presencia de flavonoides en el medio, para realizar dicha prueba se agregaron 2 ml de extracto disuelto en agua ya que no se contaba con tanto extracto, se le agregó el HCl, para ambos extractos se obtiene un resultado negativo. Igualmente, la prueba de cloruro de hierro (III) no presentó coloración roja, azul, verde o púrpura, la solución quedó igual de amarilla en ambos tubos de ensayo, lo cual indica un resultado negativo

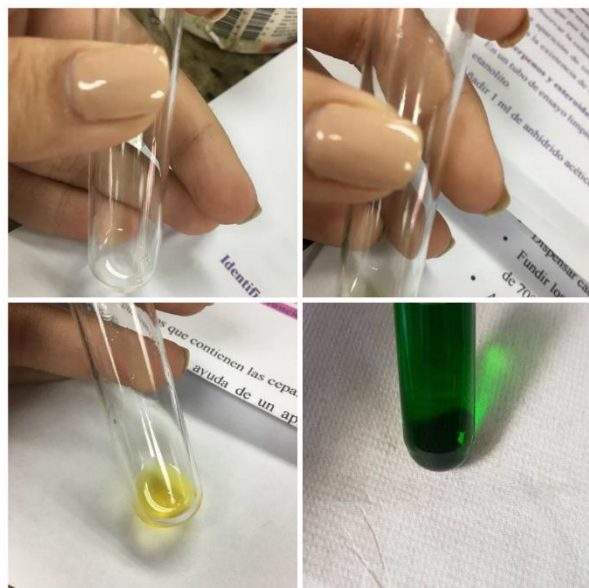
Así mismo, también se realizó la prueba de Lieberam.Burchard, en la cual se agregó el extracto disuelto en alcohol etílico y se agregó el reactivo de Lieberam. Burchard ya disponible en la Universidad Internacional de las Américas. En la prueba se observó una coloración turquesa, la cual indica una respuesta positiva a la prueba.

Tabla 11. Resultados obtenidos de las pruebas de identificación para los extractos (acuoso y éter etílico)

Prueba de identificación	Extracto acuoso	Extracto de éter etílico
Prueba de saponinas	Negativo	Negativo
Prueba de salkowski	Negativo	Negativo
Prueba de Lieberam-Burchard	Positivo	Positivo
Prueba de Cloruro de hierro (III)	Negativo	Negativo

Fuente: autor

Ilustración 39. Resultado obtenido de las pruebas de identificación



Fuente: autor

**Variable 2. Evaluación experimental del método de extracción del aceite esencial del eucalipto para obtener un aceite más puro.**

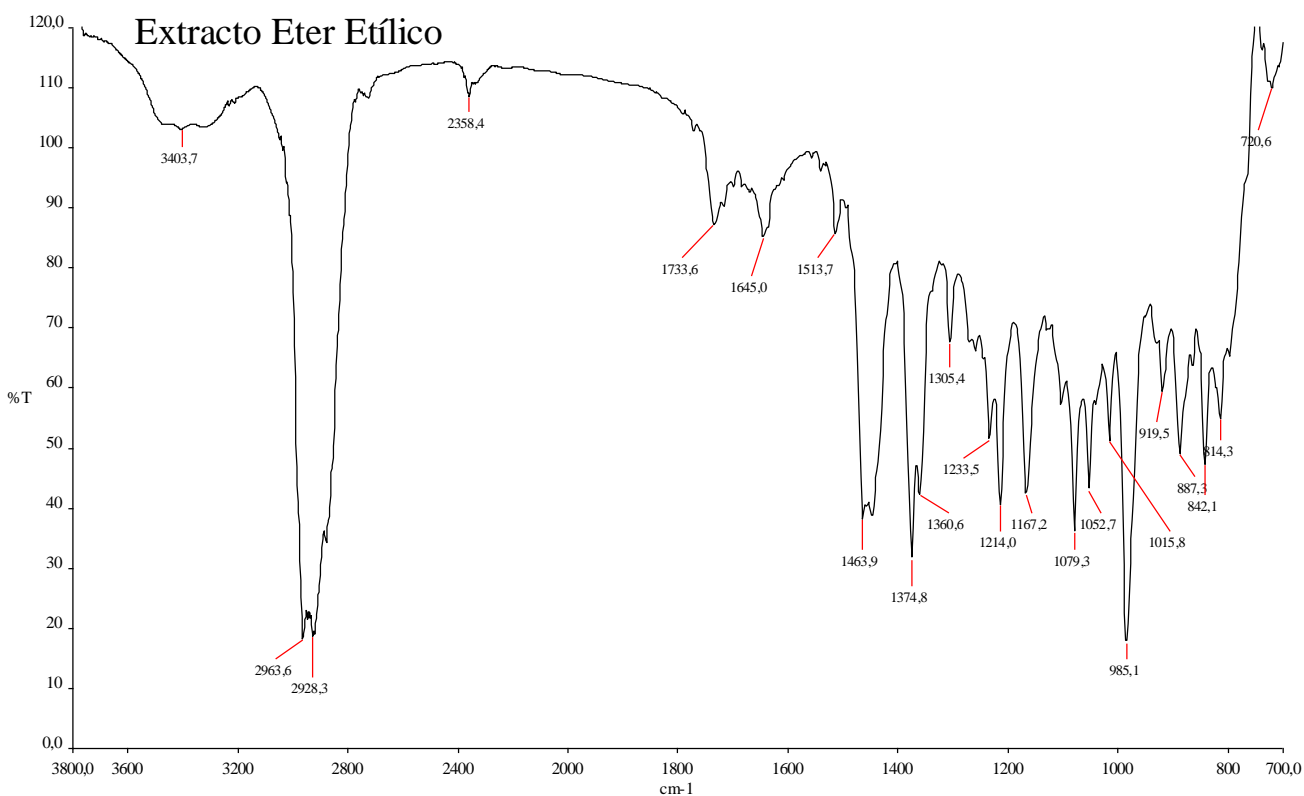
**Análisis por espectroscopia IR de los aceites esenciales de eucalipto obtenidos a partir de disolvente: agua y éter etílico**

Se realizó un análisis de espectro infrarrojo usando el espectro infrarrojo modelo Perkin Elmer Spectrum FT-IR, con los extractos obtenidos a partir de la extracción en disolventes acuoso y de éter etílico por el método de Soxhlet. La prueba se realizó unos días después de haber purificado el extracto para evitar presencia de componentes indeseables en el resultado final de la prueba. Se realizó 2 días después ya que se llevó al laboratorio de la UNIBE (Universidad Iberoamericana) porque la Universidad Internacional de las Américas carece del dispositivo.

Para el análisis de las bandas obtenidas se realizó un listado de las principales bandas que se obtuvieron y, así mismo, se procedió a clasificarlas según el grupo funcional y rango de absorción aproximado para cada señal reportada en el espectro.

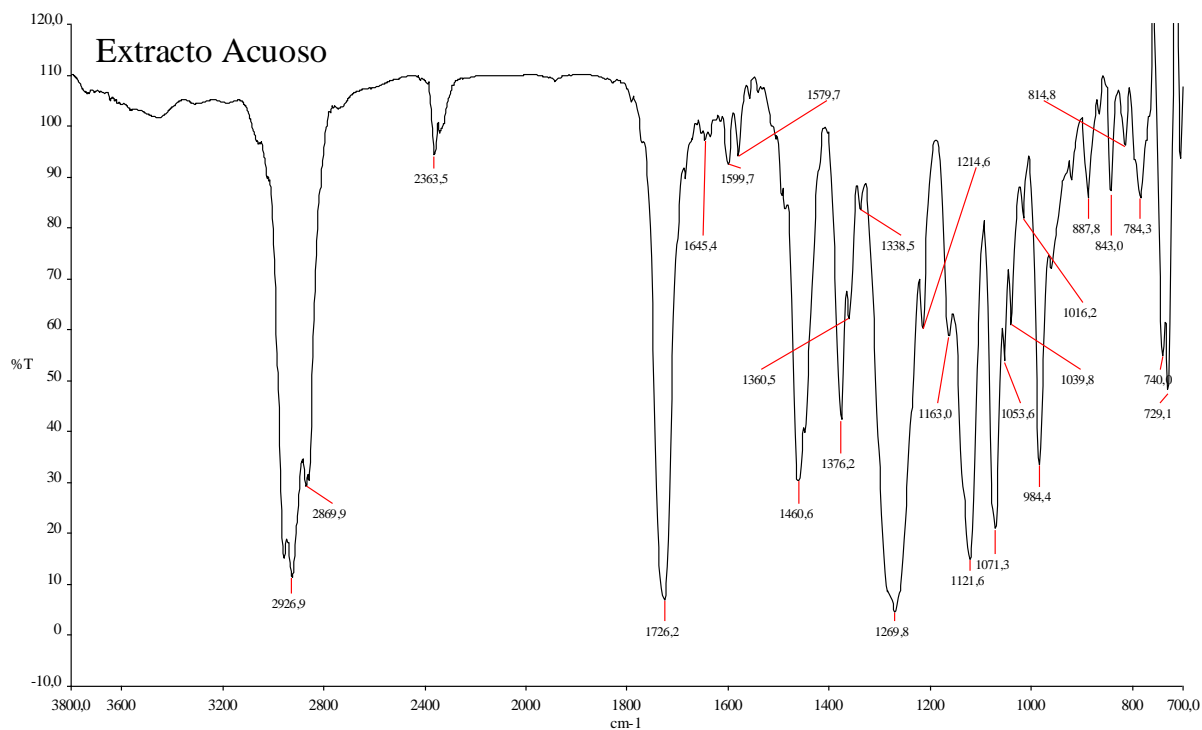
Después se realizó la comparación del espectro obtenido con un espectro de referencia disponible en Spectral Database for Organic Compounds SDBS, esto debido a que se carece de un estándar de referencia del aceite esencial de eucalipto.

Figura 4. Resultado del infrarrojo para la muestra del extracto de éter etílico usando el espectrofotómetro modelo Perkin Elmer Spectrum FT-I, realizado en las instalaciones de Los Laboratorio Químicos de la Universidad Iberoamericana UNIBE.



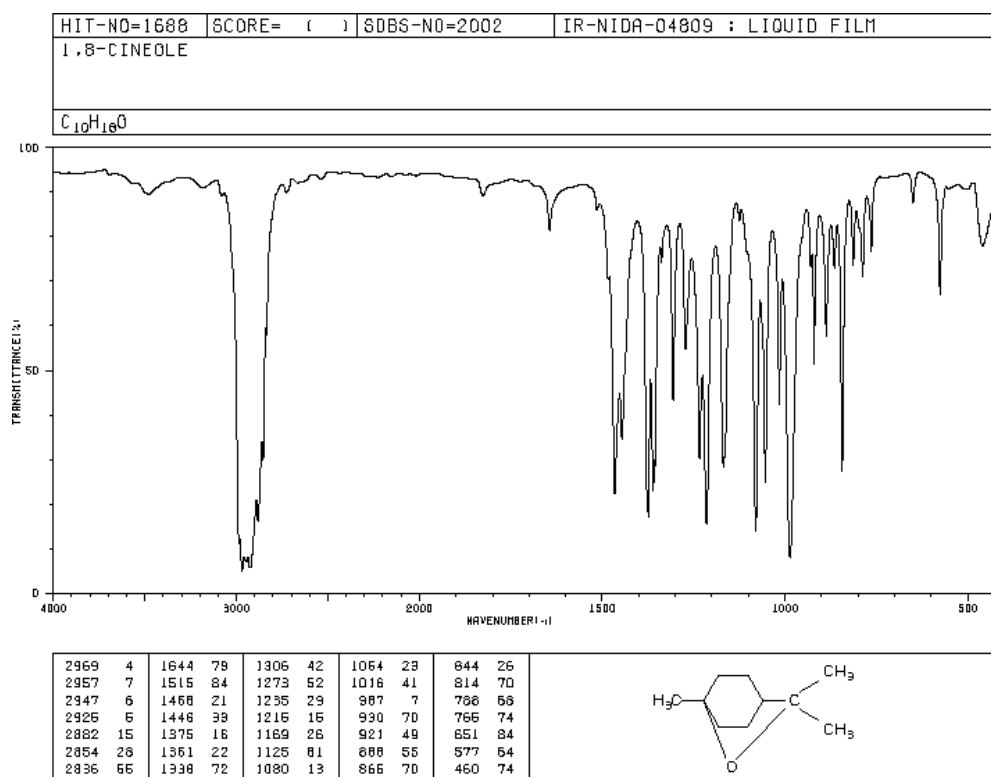
Fuente: autor

Figura 5. Resultado del infrarrojo para la muestra del extracto acuoso usando el espectrofotómetro modelo Perkin Elmer Spectrum FT-I, realizado en las instalaciones de Los Laboratorio Químicos de la Universidad Iberoamericana UNIBE



Fuente: autor

Figura 6. Espectro infrarrojo del 1,8- cineol disponible en Spectral Database for Organic Compounds (SDBS)



Fuente: tomado de [http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/cre\\_index.cgi](http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/cre_index.cgi), febrero de 2018

La molécula de eucaliptol presenta señales de tensiones C-H (sp<sup>3</sup>) también llamada señal de alcano y señal C-O debido al éter que presenta. En el espectro obtenido de Spectral Database for Organic Compounds se puede notar que las señales más predominantes de acuerdo a la estructura orgánica del eucaliptol(1,8-cineol), son las señales de C-H, señal de alcano, la cual se presenta antes de los 3000 cm<sup>-1</sup>, esto ya que casi toda la molécula es un alcano. En los infrarrojos obtenidos para los extractos en ambos se puede notar esta señal bastante fuerte; tal como se logra notar en la Figura 4 y 5. La molécula también cuenta con un éter (señal C-O), esta señal oscila entre los 1000- 1300 cm<sup>-1</sup> tal como se muestra en la base de Spectral Database for Organic Compounds, se puede apreciar que en ambos extractos la señal de C-O se encuentra señalada. Figura 6.

En el espectro obtenido para el extracto acuoso se puede apreciar una señal a los 1726 cm<sup>-1</sup> por la presencia de un aldehído, esto ya que al hacer una extracción acuosa se puede extraer

otros componentes generando otras señales que no son correspondientes de la molécula eucaliptol. Por lo que la extracción en agua presenta similitud en muchas bandas; sin embargo, presenta otros compuestos que se arrastran provocando que el extracto se vea contaminando.

Por otro lado, cuando se compara el espectro obtenido del extracto de éter etílico, se puede notar la similitud que presenta con el que se encuentra en la base de datos (Spectral Database for Organic Compounds) logrando notar que el extracto no está contaminado con otros componentes.

Tabla 12. Asignación de las bandas obtenidas en los infrarrojos para las muestras de los dos extractos

Muestra	Señal detectada cm <sup>-1</sup>	Grupo funcional Pertenece	Rango señal teórica cm <sup>-1</sup>	Intensidad de la señal
Extracto acuoso	2926.9-2869.9	C-H alcano sp <sup>3</sup>	Antes de los 3000	Fuerte
Extracto de éter etílico.	2928.3-2963.6	C-H alcano sp <sup>3</sup>	Antes de los 3000	Fuerte
Extracto acuoso	2363.5	CO <sub>2</sub>	.....	Leve
Extracto de éter etílico.	2358.4	CO <sub>2</sub>	.....	Leve
Extracto acuoso	1726.2	Aldehído	1740-1720	Media
Extracto de éter etílico.	1733.6	Aldehído	1740-1720	Leve
Extracto acuoso	1269.8	C-O, señal de éter	1000-1300	Fuerte
Extracto de éter etílico.	1374.8	C-O, señal de éter	1000-1300	Media

Fuente: autor

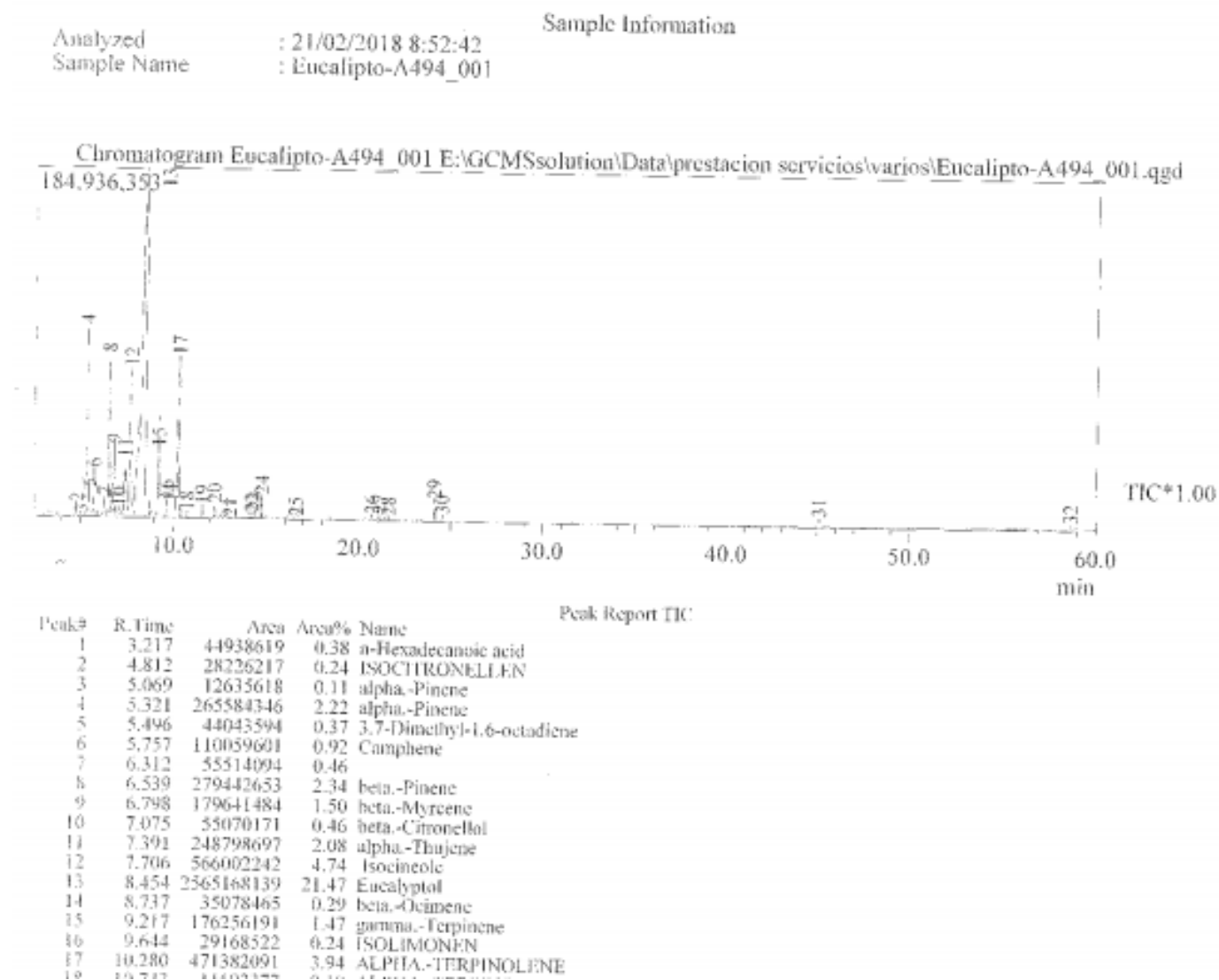
**Análisis del cromatograma y espectro de masas obtenido del aceite esencial de eucalipto mediante la técnica de cromatografía de gases acoplado a un detector de masas.**

La cromatografía de gases acoplado a un detector de masas (CG-MS) es una técnica que sirve para comprobar la presencia de los componentes del aceite esencial de eucalipto; por medio de la técnica, se determina la cantidad en porcentaje de los componentes presentes; es confiable, identifica y determina la cantidad en porcentaje de todos los componentes del aceite. Para realizar esta técnica se contrató al Centro de Investigación en Productos Naturales de la Universidad de Costa Rica (CIPRONA). Cabe recalcar que este solamente se realizó con la muestra del extracto obtenido a partir del disolvente éter etílico.

Con el resultado obtenido para el extracto, se logró establecer la presencia de 8 compuestos siendo el eucaliptol el componente mayoritario con un 21.47%, también se encontraron otros componentes que oscilan entre 1-5%, entre ellos se encuentran:  $\alpha$ -Pinedo 2.22%,  $\beta$ -Pinedo 2.34%,  $\beta$ -Mirceno 1.50%,  $\alpha$ -Tujeno 2.08%, isocineol 4.74%, Terpineno 1.47% y  $\alpha$ - Terpinoleno 3.94%.

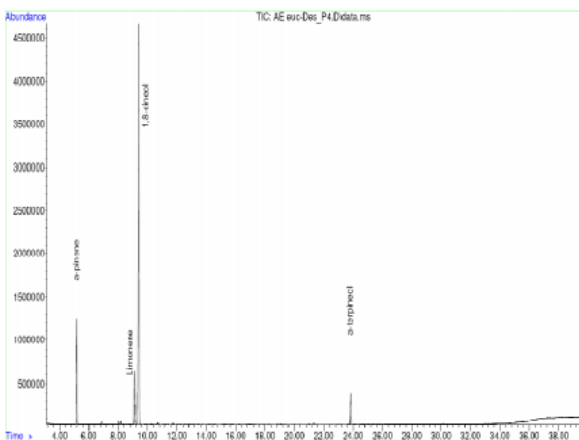
Según los autores Morales, Domínguez, González, Hernández y Bello en el año 2014 concluyen que los principales componentes de las hojas de eucalipto sembrado en la región de Bio- Bio, Chile son:  $\alpha$ -pinedo, eucaliptol,  $\alpha$ -terpinol,  $\alpha$ -terpinol acetato y Globulol. Estos resultados obtenidos son semejantes a los obtenidos por el aceite esencial obtenido por medio de la destilación soxhlet, usando éter etílico como disolvente.

Figura 7. Cromatograma obtenido mediante análisis de cromatografía de gases acoplado a masas realizado en CIPRONA, UCR



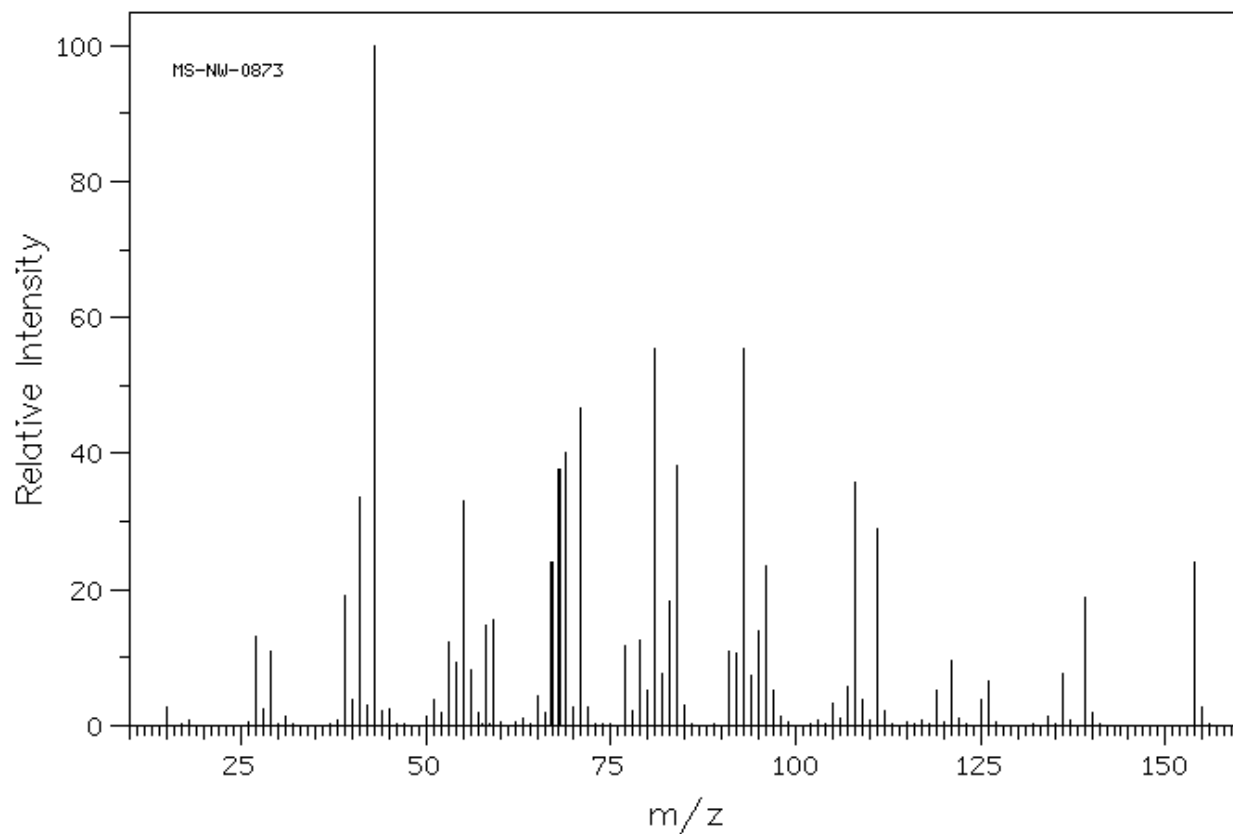
Fuente: autor

Figura 8. Cromatograma obtenido por los autores mediante el análisis de cromatografía de gases acoplado a masas realizado en Manizales, Colombia 2009



Fuente: obtenido de Cerón, 2009, p. 43

Figura 9. Espectro masas del eucaliptol disponible en Spectral Database for Organic Compound



Fuente: Obtenido de [http://sdfs.db.aist.go.jp/sdfs/cgi-bin/cre\\_index.cgi](http://sdfs.db.aist.go.jp/sdfs/cgi-bin/cre_index.cgi), marzo 2018.

Según el cromatograma obtenido para la muestra del aceite de eucalipto, se logra observar en el gráfico donde el eje “X” indica la intensidad de la señal; es decir, su concentración y el eje “Y” indica el tiempo donde se logra identificar la señal del compuesto. En la Figura 7 se puede analizar que sobresalen cinco bandas, la número 4 que indica presencia de  $\alpha$ -pinedo, la 8  $\beta$ -pinedo, 12 isocineole (1.4-cineol), 13 eucaliptol(1.8-cineol) y 17  $\alpha$ - Terpinol.

La autora Cerón (2009) desarrolló en su investigación un cromatograma para el aceite esencial de eucalipto, en el mismo obtuvo picos con mayor concentración de  $\alpha$ -pinedo y eucaliptol. Para el  $\alpha$ -pinedo se observó un pico antes de los 6 minutos, comparando este resultado con el obtenido en la investigación se logra observar que el pico fue reportado a los 5 min. En el caso de eucaliptol, los autores en su estudio reportaron una señal entre los 8 min y los 10 min, al comparar con el obtenido eucaliptol se obtuvo señal a los 8 min. Basándose en lo descrito en los compuestos que se observa mayor concentración (señal 4y 13) se concluye que existe concordancia entre ambos estudios.

Debido a que no se cuenta con un patrón, se utilizó el espectro disponible en la base de datos: Spectral Database for Organic Compound Figura 9, se puede apreciar un pico significativo, al compararse con el cromatograma de la Figura 7 se observa una similitud.

### **Variable 3. Elaboración de una crema a base de la extracción del aceite esencial del eucalipto con propiedades anti bacteriales**

Para este apartado se procedió a elaborar una crema según lo indicado en la USP 28. Para ello se pesaron los ingredientes por separado, se agitó el tiempo que se establecía en el proceso descrito en la farmacopea. Se realizó una crema con el extracto y otra sin presencia del extracto para de esta forma evaluar si algún reactivo en la crema sin extracto podía inhibir el crecimiento del microorganismo y no el aceite esencial.

Se prepararon 100 gramos de crema con y sin aceite esencial de eucalipto; la crema se realizó a una concentración del aceite (21.47%), ya que a esta concentración se obtuvo un halo importante en la placa. Para ello, primeramente, se funden los materiales grasos cuidando el

punto de fusión de ellos, una vez fundidos se agregó la cantidad del aceite esencial de eucalipto y finalmente se agrega la fase acuosa de la mezcla y se dejó en agitación por lo menos por 20 min con el fin de obtener una crema homogénea. La crema fue elaborada en la Universidad Internacional de las Américas UIA.

Es importante comentar que esta se envasó en un tubo de aluminio de color blanco, con el fin de proteger el medicamento de la luz y facilitar el uso del medicamento para los pacientes. Tal como se muestra en la ilustración 41.

Tabla 13. Porcentajes de los reactivos necesarios para la elaboración de la crema

<b>Reactivo</b>	<b>% del reactivo utilizado para elaborar 100 gramo de crema</b>	<b>Fase a la que pertenece el ingrediente</b>
Alcohol cetílico	2%	Fase acuosa
Ácido estérico	7%	Fase acuosa
Glicerina	10%	Fase oleosa
Metilparabenos	0.15%	Fase oleosa
Propilparabenos	0.05%	Fase acuosa
Aceite mineral	20%	Fase acuosa
Trietanolamina	2%	Fase oleosa
Aceite esencial de eucalipto	5%	
Agua destilada csp 100g		

Fuente. Autor

Tabla 14. Características de la crema elaborada con extracto de eucalipto

<b>Características</b>	<b>Resultados.</b>
Olor	Característico del eucalipto
Viscosidad	Ligeramente viscosa, consistencia agradable
Color	Verde claro

Fuente: autor

Ilustración 40. Apariencia física de la crema a base del aceite esencial de eucalipto realizado en el laboratorio de la Universidad Internacional de las Américas.



Fuente: autor

Ilustración 41. Producto terminado debidamente etiquetado



Fuente: autor

Ilustración 42. Empaque secundario de la crema a base de eucalipto.



Fuente: autor

**Variable 4. Comparación de la eficacia de la crema (fitofármaco), el aceite esencial obtenido de la extracción del eucalipto y la crema sin aceite esencial en su formulación, de manera experimental sobre cepas controladas de *streptococcus pyogenes*.**

Para realizar este apartado se tuvo que pedir la cepa de estreptococcus pyogenes a la facultad de Bacteriología Médica ubicada en la Universidad de Costa Rica UCR, ya que el laboratorio Microlabs no contaba con la cepa. Cabe recalcar que la cepa fue entregada en enero por la UCR y llevado el mismo día al laboratorio Microlabs, de esta forma se garantiza la existencia del microorganismo en buen estado y a su vez para que fuera incubada y preparada para la realización de la prueba microbiológica

El *S.pyogenes* es una bacteria  $\beta$ .hemolítica necesita sangre para poder crecer en un ambiente favorable para la misma. Por lo que el Dr Roldan Ajun Chaverri debió tomar una muestra de sangre de mi persona para poder realizar el agar correspondiente. Cabe recalcar que las pruebas se realizaron en forma adecuada y con todas las medidas de seguridad, aplicando técnicas asépticas y el uso de materiales estériles, los mismo una vez utilizados fueron desechados.

Para formar el agar y todas las etapas de la prueba antimicrobiana, se realizó dentro de una cámara de flujo laminar. Para el periodo de incubación se mantuvieron temperaturas de 36 °C. Para poder trabajar con la cepa, se necesitaba que esta estuviera en la fase de crecimiento para obtener de manera más significativa el resultado por lo que el laboratorio Microlabs suministró un caldo que contenía la bacteria preparado con 24 horas de anticipación.

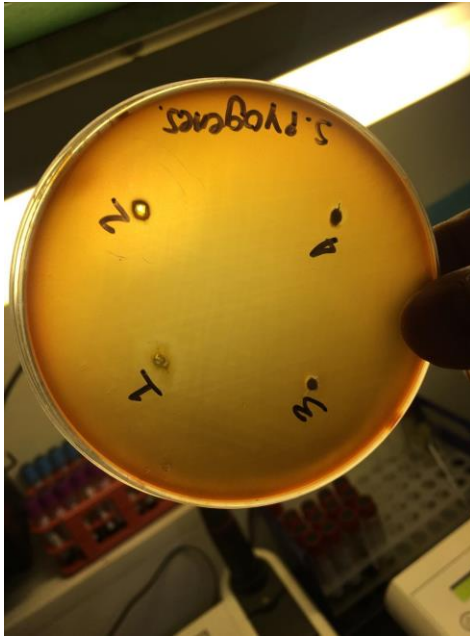
La cepa fue aplicada con la técnica de hisopado, que representada aplicar la cepa repitiendo el proceso por 3 ocasiones con el fin de que toda la placa quedara con la presencia de la bacteria, esto se realizó en el medio de cultivo llamado agar sangre. Seguidamente se realizó una especie de “hoyos” dentro del agar con la ayuda de una micro pipeta, específicamente cuatro, separados entre sí para notar con más claridad el resultado. Se colocó el aceite esencial de eucalipto, la crema con extracto de eucalipto y crema sin extracto.

Finalmente, después de las 24 horas de incubación a una temperatura controlada se observó la formación de halos de inhibición microbiana con el aceite esencial, pero no así con la forma farmacéutica desarrollada por lo que esta se realizó nuevamente con mayor proporción del aceite esencial, obteniéndose como resultado como se muestra en la ilustración 55. Es importante recalcar que el agar sangre es más difícil de observar debido al color que presenta en la placa.

Se logró observar una inhibición de aceite esencial de eucalipto (Figura 10), el cual tenía una concentración de la molécula eucaliptol al 22%. Lo analizado fue que el aceite esencial al no ser soluble en agua y, por otro lado, la sustancia que se utilizó para preparar el agar sangre; era un agar enriquecido en base agua, esto dificultó la perfusión del aceite dentro de la placa. Sin embargo, pese a esta limitante el aceite inhibe el crecimiento del microorganismo. Como resultado se obtuvo un halo de inhibición de 4mm.

Además, en el laboratorio microbiológico, en un intento por realizar la colocación del aceite esencial de eucalipto en un hoyo ya formado, este se colocó en exceso, por lo que se esparció en el agar; igualmente se incubó esta placa. Al pasar las 24 horas de incubación se observó que en todo el recorrido que hizo el aceite en el agar hubo una inhibición del crecimiento del microorganismo. (Figura 11)

Figura 10. Inhibición obtenida del aceite esencial, la crema con extracto y la crema sin extracto. Realizada en el mes de febrero en el laboratorio Microlabs



Fuente: Autor

Figura 11. Inhibición obtenida del aceite esencial del eucalipto. Realizada en el mes de febrero en el laboratorio Microlabs



Fuente: Autor

Figura 12. Inhibición obtenida de la crema elaborada a base de eucalipto y la crema sin extracto. Realizada en el mes de marzo en el laboratorio Microlabs



Fuente: autor

Se realizó una nueva crema a base de eucalipto que contenía el aceite esencial en una mayor proporción. La crema se realizó en un 70% fase oleosa y 30% fase acuosa, esto con el fin que el aceite esencial pudiera perfundir más eficazmente sobre la placa. Como resultado, tal como se muestra en la Figura 11, se obtuvo un resultado positivo. Así mismo, la crema que no contenía extracto en su formulación no inhibió el microorganismo.

**Variable 5. Determinar la eficacia de la crema de eucalipto mediante una comparación in-vitro con el tratamiento tópico más utilizado en farmacia comunitaria.**

Para este apartado se utilizó Cutaclin gel (lote 241924, fecha de caducidad mayo 2020), el cual contiene como principio activo Clindamicina, este medicamento tiene un mecanismo de acción semejante a los macrolidos que según los autores Restrepo M, Muneca M, Ramírez B y Acuña C (2011). *S.pyogenes* es sensible a estos medicamentos. En el estudio diseñado por estos autores Clindamicina tuvo una resistencia de 5-7% y eritromocina de 3.5%. Los medicamentos usados fueron Clindamicina, Eritromicina y Amoxicilina. Sin embargo, el único medicamento que se encontró para la administración tópica fue Clindamicina.

Cabe recalcar que el medicamento usado es lo más fuerte en el mercado que se puede utilizar para tratar impétigo tanto en niños como en adultos. Para un impétigo leve se utiliza derivados del ácido fusídico; por lo tanto, se determinó la eficacia de la crema en comparación con el medicamento más fuerte para tratar este microorganismo causante de impétigo de uso tópico en este caso una formulación en gel, según lo recomendado por el Dr Luis Diego Brenes.

Para realizar dicha prueba, se colocó el medicamento en la misma placa que comprobaba la eficacia de la crema realizada. El resultado se observa en la Figura 12, se aprecia un halo de inhibición del medicamento de 21mm y la crema a base de eucalipto un halo de 14 mm.

Los autores Álvarez y Cáceres, realizaron un estudio el cual llevaba el nombre “Inhibición de streptococcus pyogenes y Staphylococcus aureus por extractos vegetales usados en el tratamiento de afecciones respiratorias”. En dicha investigación, utilizando extracto de eucalipto como agentes inhibitorio de la cepa s.pyogenes, se obtuvo un halo de inhibición de 5 a 10 mm. Además, es importante recalcar que eucalipto fue el extracto que mostró mayor actividad inhibitoria en comparación con los demás extractos probados sobre ambos microorganismos.

Por lo tanto, se comprueba la acción antimicrobiana del extracto de eucalipto y de la crema elaborada a base del extracto. Y, a su vez, desarrollando una terapia farmacológica a base medicinal para tratar patologías asociadas con s. pyogenes; entre ellas: impétigo y faringitis estreptocócica.

## **CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

Finalizado el trabajo de investigación, se obtuvo como principales conclusiones:

- El éter etílico fue el disolvente con el que se obtuvo un mejor resultado en la extracción del aceite esencial usando el método de Soxhlet.
- La técnica de cromatografía de capa fina que se utilizó para la purificación de los extractos resultó ser muy eficiente; ya que la purificación permite eliminar trazos de agua o metabolitos del disolvente utilizado.
- Las pruebas usadas para la identificación de metabolitos activos fueron: prueba de Salkowski, de Lieberam-Burchard, de saponinas y de Cloruro de hierro (III). Estas cuatro pruebas demuestran presencia de esteroides y ausencia de agua y flavonoides.

- El extracto obtenido usando éter etílico como disolvente dio un espectro semejante al de la base de datos de referencia de Spectral Database for Organic Compounds (SDBS).
- La técnica de cromatografía de gases acoplado a masas demuestra todos los componentes que presenta el aceite esencial y la concentración de los mismos, entre los principales componentes se encontraron: Eucaliptol con 21.47%, isocineol 4.74% y  $\beta$ - Pineno 2.34%.
- Se logró una actividad antibacteriana del extracto de eucalipto contra la cepa de estreptococcus pyogenes; con un halo de inhibición de 4 mm.
- Se elaboró una crema con propiedades organolépticas adecuadas para ser aplicadas sobre la piel.
- Se confirma la acción antimicrobiana de la crema elaborada con el extracto a base de eucalipto 14mm, el cual ejerce una acción menor en comparación con el medicamento comercial 21mm.

**Recomendaciones.**

- Se recomienda realizar la extracción de eucalipto usando otras técnicas, con el fin de realizar una comparación y obtener cuál técnica posee una mejor pureza del aceite.
- Para mejorar la pureza del aceite se recomienda utilizar solventes de una mejor calidad química.
- Investigar la molécula de eucaliptol sobre otras cepas de microorganismos causantes de enfermedades en la población.
- Se recomienda a la Universidad Internacional de las Américas invertir en más equipos para que los estudiantes de la carrera de farmacia puedan tener a mano todos los equipos necesarios para realizar los trabajos universitarios.

- Realizar los espectros y las técnicas de cromatografía, utilizando un estándar de referencia para tener un método de comparación.
- Investigar otras formas farmacéuticas novedosas en las cuales se pueda administrar a molécula y sean preferibles por los pacientes.

### REFERENCIAS

- Acuña M. (2011). Obtención del aceite esencial de *Cymbopogon nardus*, *Menta Spicata* y *Eucalyptus globulus* e incorporación en una forma farmacéutica como spray repelente y comprobación de su efectividad en especies de orden díptero (Tesis para obtener título profesional). Universidad Internacional de las Américas. San José.
- Alake B, Oluseun O y Doyin F. (2015). The antiviral activity of leaves of *Eucalyptus camaldulensis* (Dehn) and *Eucalyptus torelliana* (R. Muell). *Pak. J. Pharm. Sci*, vol 28, pp.1773-1776.
- Álvarez A y Cáceres A. (s.f). Inhibición de *Streptococcus pyogenes* y *Staphylococcus aureus* por extractos vegetales usados en el tratamiento de afecciones respiratorias. *Revista Científica*, Vol. 6.1, pp. 11-17.

- Aracil B y Alós J. (s.f). Streptococchi pyogenes resistente a los macrolidos. Febrero 2018, de Control Calidad SEIMC Sitio web: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/fenotm.pdf>
- Argudo I (2001). Determinación del estreptococo beta hemolítico para el diagnóstico precoz de la fiebre reumática. (tesis para obtener título profesional) Universidad de Guayaquil Guayaquil. Ecuador.
- Bueno I, García M y Henriquez K. (2003). Extraccion liquido- sólido(soxhlet). 18 de noviembre del 2017, de Escuela técnica Universidad de Barcelona Sitio web: [ftp://ftp-urgell.upc.es/quimica/EEQ/EEQ-1/INFORMES\\_2001-2016/2003-Tardor/INFORME\\_G18\\_E1.pdf](ftp://ftp-urgell.upc.es/quimica/EEQ/EEQ-1/INFORMES_2001-2016/2003-Tardor/INFORME_G18_E1.pdf)
- Cáceres A, Álvarez A, Ovando A y Samayoa B. (1991). “Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases 1. Screening of 68 plants against gram positive bacteria. Journal of Ethnopharmacology, vol 31, pp.193-208.
- Calle L, Pérez M, Méndez M, Martínez E, Álvarez E y Garcia G. (2017). Cambios evolutivos en las tasas y fenotipos de resistencia de Streptococcus pyogenes en una población pediátrica de Asturias, España (2005-2015). Rev Esp Quimioter, vol 30, pp.90-95.
- Carrión A y García C. (2010). Preparación de extractos vegetales determinación de eficiencia de metódica. (tesis para obtener título profesional). Universidad de Cuenca. Ecuador
- Cerón I. (2009). Separación de metabolitos de los aceites esenciales de eucalipto y cidrón por destilación molecular. Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales. Manizales, Colombia
- Cea de Amaya R. (2013). Fitofármacos. fecha de recuperación: 6 de noviembre del 2017, de Ministerio de Economía del El Salvador. Sitio web: Recuperado: <file:///C:/Users/monte/Desktop/ARTICULOS/Cea2013.pdf>
- Cermelli C, Fabio A, Fabio G y Quaglio P. (2007). Effect of Eucalyptus Essential Oil on Respiratory Bacteria and Viruses. Springer Science Business Medi, pp.89-92.

- Chang H, ShenX, Fu Z, Liu L, Shen Y, Liu Z, Yu S, Yao K, Zhao C y Yang Y. (2010). Antibiotic resistance and molecular analysis of *Streptococcus pyogenes* isolated from healthy schoolchildren in China. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, vol.42, pp.84- 89.
- Elaissi A. (2012). Chemical composition of 8 eucalyptus species' essential oils and the evaluation of their antibacterial, antifungal and antiviral activities. Elaissi et al. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, vol 12, pp.1-15.
- Fernández C, Hernández R y Baptista P. (2014). *Métodos de la investigación*. México: McGRAW-HILL.
- Ferradas V. (2013). *Formas Farmacéuticas y vías de administración* . 26 de enero del 2018 , de Colegio profesional de Fisioterapeutas de Castilla y León Sitio web: <http://cofsegovia.portalfarma.com/Documentos/Curso%20Fisioterapéutas/3.-%20FORMAS%20FARMACÉUTICAS%20Y%20VÍAS%20DE%20ADMINISTRACIÓN.pdf>
- Flores A, Hernández A y Vlladares M (2004). Determinación de la actividad antifungica de aceites esenciales extraídos DE *Lippia graveolens* (OREGANO), *Rosmarinus officinalis* (ROMERO) y *Eucalyptus globulus* (EUCALIPTO) en *Microsporum canis* *Trichophyton rubrum* y *Epidermophyton floccosum* (tesis para obtener título profesional). Universidad de El Salvador. San Salvador
- Fonnegra R y Jiménez S. (2007). *Plantas medicinales aprobadas en Colombia*. Medellín: Editorial Universidad de Antioquia.
- Fundación Salud y Naturaleza. (2007). *LIBRO BLANCO de los herbolarios y las plantas medicinales*: editorial *Papaver rhoeas L.*
- Gonzales R. (s.f). *Teoría de formas farmacéuticas*. Fecha de Recuperación: 18 de noviembre del 2017, de Universidad de Costa Rica Sitio web: [http://www.dftc.ucr.ac.cr/images/Documentos/Manuales\\_Practicas/Medicina/Teor%C3%ADa\\_de\\_Formas\\_Farmac%C3%A9uticas.pdf](http://www.dftc.ucr.ac.cr/images/Documentos/Manuales_Practicas/Medicina/Teor%C3%ADa_de_Formas_Farmac%C3%A9uticas.pdf)

- Guerra JF, Mallén C, Struck Adelwart y Varela T. (2008). Destilación simple. 17 de noviembre del 2017, de Universidad Iberoamericana Sitio web: [http://fjartnmusic.com/Personal/8o\\_Semestre\\_files/DS.pdf](http://fjartnmusic.com/Personal/8o_Semestre_files/DS.pdf)
- Ibrahim J, Elsen J, Jospin G, Coil D, Khazem G and Tokajian S. (2016). Genome analysis of *Streptococcus pyogenes* associated with pharyngitis and skin infections. PLOS ONE, pp. 1-16.
- Kosky I (2009). Evaluación de medios de cultivo para el aislamiento de *Streptococcus pyogenes* en pacientes con diagnóstico clínico de faringoamigdalitis que acuden al laboratorio del SELADIS durante los meses de julio a diciembre del 2008. tesis para obtener título profesional). Universidad Mayor de San Andrés. Bolivia, La paz
- Lazaeta M. (1997). Medicina Natural al alcance de todos. México: Editorial Pax México.
- López B, Ortonobes S y García C. (2015). ungüentos, pomadas, cremas, geles y pastas: ¿es todo lo mismo? 18 de noviembre del 2017, de Farmacia especialista en Farmacia Hospitalaria Sitio web: [http://archivos.fapap.es/files/639-1294-RUTA/FAPAP\\_4\\_2015\\_Unguentos\\_pomadas.pdf](http://archivos.fapap.es/files/639-1294-RUTA/FAPAP_4_2015_Unguentos_pomadas.pdf)
- Lozano J. (s.f). Laboratorio de química analítica e institucional. Recuperado el 15 de noviembre del 2017, de Universidad de Bogotá Sitio web: [http://avalon.utadeo.edu.co/comunidades/estudiantes/ciencias\\_basicas/analitica\\_instrumental/guia\\_2\\_1.pdf](http://avalon.utadeo.edu.co/comunidades/estudiantes/ciencias_basicas/analitica_instrumental/guia_2_1.pdf)  
[http://avalon.utadeo.edu.co/comunidades/estudiantes/ciencias\\_basicas/analitica\\_instrumental/guia\\_2\\_1.pdf](http://avalon.utadeo.edu.co/comunidades/estudiantes/ciencias_basicas/analitica_instrumental/guia_2_1.pdf)
- Macedo M y Mateos S. (2008). Infecciones respiratorias. Higiene. edu, CEFA, pp.137-161. febrero 2018, De <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Infeccionesrespiratorias.pdf>.
- Mahmood Z y Zafar S. (2013). Antibiotic natural products: Opportunities and challenges. Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education, vol. 1, p.826.
- Medina A. (2015). Uso de las plantas en la antigüedad clásica. Arqueología botánica
- Mendes S, Yae S, Seigi F, Frensch G, Marques F y Nakashima T. (2011). Essential Oils from Different Plant Parts of *Eucalyptus cinerea* F. Muell. ex Benth. (Myrtaceae) as a Source of 1,8-Cineole and Their Bioactivities. Pharmaceutical, vol 4, pp.1535-1550.

- Ministerio de Agricultura, Dirección General Forestal y de Fauna. 1978. Introducción de *Eucalyptus* spp. en las tierras áridas de Lambayeque. Proyecto Inventario Forestal Nacional. 25 pp
- Morado M, Ouchot A, Giachetti A, Moreno R, Falaschi A, Corazza R, Mangerei C y Roldan D. (2014). Infecciones en piel y partes blandas en pediatría: consenso sobre diagnóstico y tratamiento. *SciELO*, vol 112, pp. e96- e102.
- Morales H (2012). análisis in-vitro del efecto antibacteriano del aceite esencial del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) sobre una de las principales cepas bacterianas causales de faringoamigdalitis (*Streptococcus pyogenes*), realizado durante los meses de mayo y agosto del 2012". (tesis para obtener título profesional) Universidad Internacional de las Américas. San José Costa Rica.
- Morales H. (2012). Análisis in vitro del efecto antibacteriano del aceite esencial del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) sobre una de las principales bacterias causales de faringoamigdalitis (*Streptococcus pyogenes*) realizado durante los meses de mayo y agosto del 2012). (Tesis para obtener título profesional). Universidad Internacional de las Américas. San José.
- Morales M, Domínguez M, Gonzales G, Hernandez V y Bello H. (2015). actividad antimicrobiana de aceite esencial de *Eucalyptus globulus*, proveniente de la región del Bío-Bío, Chile, sobre *Klebsiella pneumoniae* productoras de BLEE. febrero 2018, de Universidad de Concepción Sitio web: [https://www.researchgate.net/publication/280939709\\_ACTIVIDAD\\_ANTIMICROBIANA\\_DE\\_ACEITE\\_ESENCIAL\\_DE\\_EUCALYPTUS\\_GLOBULUS\\_PROVENIENTE\\_DE\\_LA\\_REGION\\_DEL\\_BIO-BIO\\_CHILE\\_SOBRE\\_KLEBSIELLA\\_PNEUMONIAE\\_PRODUCTORAS\\_DE\\_BLEE](https://www.researchgate.net/publication/280939709_ACTIVIDAD_ANTIMICROBIANA_DE_ACEITE_ESENCIAL_DE_EUCALYPTUS_GLOBULUS_PROVENIENTE_DE_LA_REGION_DEL_BIO-BIO_CHILE_SOBRE_KLEBSIELLA_PNEUMONIAE_PRODUCTORAS_DE_BLEE)
- Moran A. (2014). Antibióticos. febrero 2018, de Dciencia Ciencia para todos Sitio web: <http://dciencia.es/antibioticos/>
- Moreno C y Riveros M. (2017). Uso y actitudes frente a los medicamentos naturales y homeopáticos en pacientes pediátricos: una encuesta entre médicos colombianos. *Pediatr*, vol. 50, pp. 44-51.

- Moreno J, López G y Siche R. (2010). Modelación y optimizaron del proceso de extracción de aceite esencial de eucalipto (*Eucaliptus glóbulos*). *Scientia Agropecuaria*, 1, pp.147-154.
- Obando M. (2012). Extracción del aceite de eucalipto para el estudio fitoquímico de sus propiedades antibacterianas y antisépticas, con el propósito de elaborar un gel y en spray bucal durante los meses de enero – abril del año 2012 (Tesis para obtener título profesional). Universidad Internacional de las Américas. Sam José.
- Pacheco A. (2013). La medicina natural de la Salud. Estados Unidos.
- Palomino A. (2005). Manual El milagro de las plantas. Aplicaciones medicinales y orofaríngeas. Bogotá: Fundación Hogares Juveniles Campesina.
- 136 Penredo, H.A.; Palou-García, E.; López, A. (2009) Aceites esenciales: métodos de extracción. *Revista Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos Vol: 3*, pp 24-32
- Pinillos J y Lopera C. (2009). Elaboración de una formulación farmacéutica a través de un diseño experimental de mezclas. fecha de recuperación 18 de noviembre del 2017, de Revista de la facultad de química farmacéutica Sitio web: <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v16n3/v16n3a08.pdf>
- Plascencia G (2003), Espectroscopia de masas. (tesis para obtener el doctorado). Universidad Nacional Autónoma de México. Cuernavaca México
- Rasooli I, Shayegh S y Astanch SDA. (16 de setiembre 2008). The effect of *Menta spicata* and *Eucalyptus camaldulensis* essential oils on dental biofilm. *Int Dent Hygiene*, Vol 7, pp.196-203.
- Rayman D. (1994). Aromaterapia, Enciclopedia de las plantas aromáticas y sus aceites esenciales. Barcelona: Editorial Kairós S.A.
- Restrepo M, Múñeda M, Ramirez B y Acuña P. (2011). Infección y colonización faríngea asintomática de niños por *Streptococcus pyogenes*. *Latreria*, vol 25, pp.203-309
- Ríos J, Paris E y Repetto G. (2012). Intoxicaciones por plantas medicinales. Madrid: Ediciones Díaz de Santos.

- Rodríguez E. (2005). Medicina Natural. Puerto Rico: La Editorial Universidad de Puerto Rico.
- Saguma G. (2014). Sensibilidad a *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* frente a diferentes concentraciones del aceite esencial de *Eucalyptus globulus*. (tesis para obtener título profesional). Universidad Nacional de Trujillo, Perú.
- Salari M, Amine G, Shiraz M, Hafezi R and Mohammadypour M. (2006). Antibacterial effects of *Eucalyptus globulus* leaf extract on pathogenic bacteria isolated from specimens of patients with respiratory tract disorders. *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, vol 12, pp.178-196.
- Sánchez M. (2016). aceites esenciales. En *Los aceites esenciales La perfecta medicina de la naturaleza* (pp.15-50). Bloomington.
- Sánchez S y Anaya M. (s.f). Técnicas de separación y purificación. febrero 2018, de Universidad Pontificia Boliviana Sitio web: <https://www.emaze.com/@AOROQQWFT/TECNICAS-DE-SEPARACION-Y-PURIFICACION>
- Schorsch G y Aubry J. (2004). Formulación presentación general. Fecha de revisión 18 de noviembre de 2017, de Universidad de los Andes Sitio web: [http://www.firp.ula.ve/archivos/cuadernos/S011A\\_Formulacion.pdf](http://www.firp.ula.ve/archivos/cuadernos/S011A_Formulacion.pdf)
- Tisserand R. (2007). El arte de la aromaterapia. Barcelona: Piadas Iberica.
- Tortura G y Derrick B. (2011). Principios de Anatomía y fisiología. Mexico DF: Editorial medica panamericana.
- Vomero A, García G, Pandolfo S, Zunino C, Ambrosioni M. Algorta G y Pérez C. (2014). Enfermedades invasoras por *Streptococcus pyogenes* 2005-2013. Hospital Pediátrico del Centro Hospitalario Pereira Rossell, Uruguay. *Rev Chilena Infecto*, vol. 31, pp. 729-734.